



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O USO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS COMO VEÍCULO DE FÁRMACOS

Trabalho submetido por
Tatiana Cristina Esteves da Costa
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O USO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS COMO VEÍCULO DE FÁRMACOS

Trabalho submetido por
Tatiana Cristina Esteves da Costa
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Ana Isabel Fernandes

novembro de 2016

Agradecimentos

Em primeiro lugar queria agradecer à Prof.º Doutora Ana Isabel Fernandes, pelo apoio durante o desenvolvimento da monografia.

Agradecer a todos os professores pela qualidade de ensino prestada ao longo do curso.

Aos meus colegas e amigos por estes 5 anos magníficos, que jamais esquecerei.

Agradecer ao meu namorado por todo o apoio prestado.

Agradecer aos meus pais, sem eles nada disto seria possível, é a eles a quem devo a
pessoa que sou hoje.

Resumo

As nanopartículas lipídicas tornaram-se atrativas nos últimos anos devido às suas propriedades promissoras, nomeadamente o uso de matérias-primas que apresentam características não tóxicas, biodegradáveis e biocompatíveis, bem como um perfil retardado de libertação ao longo do tempo, diminuindo assim efeitos adversos e aumentando a adesão à terapêutica.

A versatilidade no uso de matérias-primas e nos métodos de produção utilizados, permite o estudo de diferentes conjugações de modo a aumentar a capacidade de veiculação dos fármacos encapsulados, bem como o perfil das formulações, na medida em que um dos obstáculos é a sua estabilidade ao longo do tempo.

As nanopartículas lipídicas são divididas em três tipos: as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC) e os conjugados lípido fármaco (LDC).

Com a utilização destes sistemas vários fármacos são incorporados e veiculados por via oral, pulmonar, ocular, parentérica, transdérmica e retal, com o intuito de melhorar a sua biodisponibilidade, bem como, em alguns dos casos, tornar fármacos administráveis por vias que atualmente não o permitem, como por exemplo, a administração oral de insulina.

A toxicidade inerente a estes sistemas é praticamente nula, visto que se usam tensioativos e lípidos aprovados, embora sejam escassos os estudos em humanos. Esta área ainda está em desenvolvimento e estão a decorrer estudos de candidatos a medicamentos, sobretudo na área da oncologia.

Palavras-chave: Nanopartículas lipídicas, SLN, NLC, toxicidade.

Abstract

Lipidic nanoparticles have become attractive in recent years because of their promising properties, such as the use of raw materials that exhibit non-toxic, biodegradable and biocompatible characteristics, as well as a delayed release profile over time, thereby reducing adverse effects and increasing therapeutic adhesion.

The versatility in the use of raw materials and in the used production methods makes possible the study of different conjugations in order to increase the capacity to delivery encapsulated drugs as well as formulations profile, since one of the obstacles is its stability over time.

Lipidic nanoparticles are divided in three types: solid lipid nanoparticles (SLN), nanostructured lipid transporters (NLC) and lipid drug conjugates (LDC).

By using these systems, several drugs are incorporated and transmitted orally, pulmonary, ocular, parenteral, transdermal and rectal, in order to improve their bioavailability and in some cases, to make drugs administrable by pathways that currently do not, like oral administration of insulin.

The inherent toxicity to these systems is practically nil, since approved surfactants and lipids are used, although there are few studies in humans. This area is still under development and there are ongoing studies of drug candidates, especially in the area of oncology.

Keywords: lipidic nanoparticles, SLN, NLC, toxicity.

Índice Geral

Índice de Figuras	5
Índice de Tabelas	6
Lista de abreviaturas	7
1.Introdução	8
1.1. Nanopartículas	8
1.2. Tipos de nanopartículas lipídicas	10
1.2.1. Nanopartículas lipídicas sólidas	10
1.2.2. Transportadores lipídicos nanoestruturados	11
1.2.3. Conjugado lípido fármaco	12
1.3. Lípidos e tensioativos utilizados	13
2. Métodos de produção	16
2.1. Método da homogeneização a alta pressão:	16
2.2. Método da homogeneização a quente	16
2.3. Método da homogeneização a frio.....	17
2.4. Método de homogeneização por ultra-sons	18
2.5. Método de evaporação do solvente/emulsificação	19
2.6. Método da microemulsão	20
2.7. Método de secagem por pulverização	21
2.8. Método do fluido supercrítico	22
2.9. Método da dupla emulsificação	22
2.10. Método da emulsificação-difusão do solvente	22
2.11. Método da injeção do solvente	24
2.12. Método contador de membrana	25
3. Caracterização das nanopartículas lipídicas	26
3.1. Tamanho da partícula.....	26
3.2. Potencial zeta	27
3.3. Índice de polidispersão	27
3.4. Morfologia.....	27
3.5. Eficiência de encapsulação e capacidade de encapsulação	28
3.6. Incorporação de fármacos em nanopartículas lipídicas sólidas	28
4. Fármacos incorporados em nanopartículas lipídicas	32
4.1. Via oral.....	32
4.1.1. Exemplos de moléculas veiculadas	33

4.2. Via ocular	35
4.2.1. Exemplos de fármacos veiculados	35
4.3. Via transdérmica.....	38
4.3.1. Tretinoína.....	39
4.3.2. Doxorrubicina	41
4.4. Via inalatória	42
4.5. Via Parentérica	45
4.6. Via retal.....	46
4.7. Fármacos presentemente em ensaios clínicos	47
5. O uso de nanopartículas lipídicas na cosmética	48
6. Toxicidade	50
7. Conclusão e perspectivas futuras	52
8. Bibliografia.....	54

Índice de Figuras

Figura 1: Comparação entre a estrutura das SLN e NLC.	12
Figura 2: Processo de homogeneização a quente e frio.	18
Figura 3: Método de homogeneização por ultra-som para formação de nanopartículas lipídicas	19
Figura 4: Técnica da evaporação do solvente/emulsificação.	20
Figura 5: Técnica de microemulsão usada na formulação de SLN	20
Figura 6: Processo da técnica emulsificação/difusão do solvente.	23
Figura 7: Técnica da injeção do solvente.	24
Figura 8: Esquema de preparação de nanopartículas lipídicas pelo processo de contador de membrana	25
Figura 9: Tipos de transportador lipídicos nanoestruturados.	30
Figura 10: O uso de liofilização em diferentes amostras e o seu efeito no tamanho da partícula.	38
Figura 11: Observação de diferentes grupos de coelhos após terapêutica com tretinoína.	40
Figura 12: Crescimento tumoral dos ratos em que a) indução tumoral, b) SLN sem DOX, c) DOX sem SLN, d) DOX-SLN.	41
Figura 13: Percentagem de hidratação da pele utilizando uma formulação com NLC e outra sem NLC durante 48 dias, numa amostra de 31 pessoas.	49

Índice de Tabelas

Tabela 1: Fármacos veiculados em sistemas nanoparticulares comerciais	9
Tabela 2: Vantagens e desvantagens das nanopartículas lipídicas sólidas	11
Tabela 3: Lípidos e tensioativos usados na preparação de SLN	14
Tabela 4: Lípidos e tensioativos usados na formulação de NLC	15
Tabela 5: Vantagens e desvantagens do método emulsificação/difusão do solvente	23
Tabela 6: Fármacos incorporados em sistemas de veiculação lipídicos para administração oral.....	33
Tabela 7: Fármacos veiculados em nanopartículas lipídicas para administração ocular	36
Tabela 8: Matérias-primas utilizadas na formulação de algumas moléculas	36
Tabela 9: Critérios do estudo apresentado	40
Tabela 10: Fármacos veiculados para administração por via inalatória.	44
Tabela 11: Comparação de tempo de semivida e tempo de permanência no sangue de fármacos em suspensão (SUSP) e encapsulados em nanopartículas lipídicas (SLN)	45
Tabela 12: Fármacos incorporados em nanopartículas lipídicas de uso retal	46
Tabela 13: Fármacos presentemente em ensaios clínicos	47
Tabela 14: Cosméticos comerciais com recurso a nanopartículas lipídicas	49

Lista de abreviaturas

LDC - *Lipid drug conjugate*

SLN - *Solid lipid nanoparticles*

NLC - *Nanostructured lipid carriers*

GRAS - *Generally recognised as safe*

FDA - *Food and drug administration*

HPN - *High pressure homogenization*

PI - *Polydispersity index*

SEM - *Scanning electron microscopy*

TEM - *Transmission electron microscopy*

AFM - *Atomic force microscopy*

PEG - polietilenoglicol

CLZ - clozapina

NDP - nitrendipina

BHE - barreira hematoencefálica

MPS - *mononuclear phagocyte system*

1.Introdução

1.1. Nanopartículas

A necessidade de encontrar terapêuticas eficazes com uma entrega de princípios ativos a uma taxa específica, num local específico, e sendo não tóxicas, é um processo que envolve muitas limitações, o que tem levado a que muitos investigadores se debrucem sobre alternativas tecnológicas, de modo a alcançar este objetivo (Kayser, Lemke, & Hernández-Trejo, 2005; Rawat, Singh, Saraf, & Saraf, 2006). Desta forma a medicina recorre à nanotecnologia de modo a inovar nos cuidados de saúde, com o uso de material na escala nanométrica tornando vantajosa esta nova tecnologia, dado que maioria dos mecanismos biológicos acontecem nesta escala, daí emerge uma janela de oportunidade para alcançar novos locais de veiculação de fármacos.

Atualmente com os avanços tecnológicos e com o desenvolvimento de novas classes de medicamentos há a necessidade de inovar nos sistemas de veiculação, uma vez que algumas destas novas moléculas apresentam fraca solubilidade, toxicidade elevada e tempo de semivida curto. Estes sistemas de veiculação tornam-se uma ferramenta estratégica para aumentar a adesão do paciente, prolongar o tempo de semi-vida da molécula, reduzir custos nos cuidados de saúde, dado que oferecem um melhor perfil farmacocinético (Parveen, Misra, & Sahoo, 2012).

A evolução dos sistemas de transporte coloidal iniciou-se em 1950 com o desenvolvimento das nanoemulsões; após estas surgiram os lipossomas (1965), as nanopartículas poliméricas (1975), as microemulsões (1980), as nanopartículas lipídicas sólidas (1992) e os transportadores lipídicos nanoestruturados (1999-2000) (Naseri. N., et al, 2015).

Ao longo dos últimos anos inúmeros princípios ativos incorporados nestes sistemas nanoparticulares têm sido aprovados, conforma apresentado na tabela 1. Uma das características mais importantes inerentes a estes sistemas é o facto de apresentarem um perfil de libertação retardado, o que proporciona uma concentração de níveis plasmáticos mais constante, uma redução da frequência de administração e dos efeitos adversos, bem como dos custos dos cuidados de saúde.

Tabela 1: Fármacos veiculados em sistemas nanoparticulares comerciais (Weissig, Pettinger, & Murdock, 2014).

Nome comercial	Princípio ativo	Tipo de sistema nanoparticulares	País (ano) de aprovação
DaunoXome®	Daunorrubicina	Lipossomas	EUA (1996)
DepoDur®	Morfina	Lipossomas	EUA (2004)
Inflexal® V	Antigénios do vírus influenza	Lipossomas	Suíça (1997)
Marqibo®	Vincristina	Lipossomas	EUA (2012)
Emend®	Aprepitant	Nanocristais	EUA (2003)
Rapamune®	Sirolimus	Nanocristais	EUA (2002)
Megace ES®	Megestrol	Nanocristais	EUA (2005)
Opaxio®	Pacitaxel	Nanoformulações baseadas em polímeros	EUA (2012)
NanoTherm®	Aminosilano	Nanoformulações baseadas em metais	EUA (2013)
Diprivan®	Propofol	Nanoformulações baseadas em tensioativos	EUA (1989)

As nanopartículas são partículas coloidais sólidas cujo tamanho varia entre os 10 e os 1000 nm; nestas os princípios ativos são dissolvidos, aprisionados e/ ou absorvidos/ligados.

As vantagens das nanopartículas lipídicas face aos tradicionais transportadores coloidais, tais como emulsões e lipossomas prendem-se com o facto de estas serem biodegradáveis, não tóxicas e capazes de armazenar/ libertar o fármaco por períodos mais longos (Soni, Kukereja, Kapur, & Kohli, 2015). Uma das limitações das tecnologias convencionais (comprimidos e cápsulas) é a sua instabilidade no trato GI. Com o uso de nanopartículas parece que a sua estabilidade no trato gastrointestinal melhorou, o que leva a que seja um bom indicador de libertação prolongada visto que não existe degradação precoce do princípio ativo (Reddy & Shariff, 2012).

No universo das nanopartículas existem as nanopartículas lipídicas que podem ser classificadas em 3 tipos: nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC) e conjugado fármaco lípido (LDC) (Marcato, 2009).

Estes sistemas são comercialmente viáveis para as formulações farmacêuticas destinadas a administração tópica, oral, pulmonar, parentérica, transdérmica e retal, como será discutido no capítulo 3. Deste modo, a sua segurança e eficácia têm sido estudadas e exploradas, tornando-as candidatos atrativos para a formulação de medicamentos, assim como vacinas e nutracêuticos (Soni et al., 2015).

1.2. Tipos de nanopartículas lipídicas

1.2.1. Nanopartículas lipídicas sólidas

As nanopartículas lipídicas sólidas (SLN – *Solid lipid nanoparticles*) são constituídas por uma estrutura que tem uma base transportadora coloidal, o lípido, e estabilizadas por tensioativo(s). Relativamente ao seu tamanho encontram-se classificadas no tamanho dos nanómetros 50-1000nm, sendo fisiologicamente biocompatíveis e sólidas à temperatura ambiente (Reddy & Shariff, 2012)

Estas partículas, como exibem um núcleo sólido, proporcionam um aumento do controlo da cinética de libertação dos fármacos encapsulados, uma vez que a mobilidade dos princípios ativos é menor, assim sendo irá haver um retardamento da reação de degradação (Yadav, Khatak, Vir, & Sara, 2013).

O interesse nos sistemas de veiculação baseados em lípidos surgiu devido a diversas razões, tais como: versatilidade nos excipientes lipídicos usados, formulações e escolha de diferentes sistemas de veiculação, biodisponibilidade oral melhorada e reduzida variabilidade de concentração no plasma, e os lípidos são menos caros do que os transportadores poliméricos / tensioativos (Soni et al., 2015).

Tabela 2: Vantagens e desvantagens das nanopartículas lipídicas sólidas (Reddy & Shariff, 2012; Soni et al., 2015).

Vantagens	Desvantagens
Libertação controlada	Pouca capacidade de veicular fármacos diferentes
Partículas com tamanho entre 120-200nm não são recapturadas pelo sistema fagocitário	Desencapsulação do fármaco após a transição polimérica durante o armazenamento
Protegem as moléculas dos fármacos suscetíveis a degradação	Teor de água relativamente elevado das dispersões (70-99,9%)
Podem ser submetidas ao processo de congelação, formando uma forma farmacêutica em pó	Crescimento das partículas durante o armazenamento
Boa estabilidade	
Excelente reprodutibilidade	
Viabilidade de incorporação de moléculas hidrófilas e hidrófobas	

1.2.2. Transportadores lipídicos nanoestruturados

Os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC – *Nanostructured lipid carriers*), foram concebidos com o objetivo de melhorar a estabilidade de transporte até ao local de ação, evitando assim a expulsão precoce da molécula (N. Raul., 2011). Estas estruturas são modificações das SLN, visto que neste caso a matriz é constituída por uma fase lipídica sólida e líquida, sendo que a fase aquosa contém um tensioativo ou uma mistura destes. As proporções usadas de lípidos sólidos e lípidos líquidos são de 70:30 no mínimo, até uma proporção máxima de 99,9:0; o tensioativo irá variar de 1,5% a 5%.

Como consequência das propriedades promissoras destes sistemas de veiculação, presentemente estão a ser alvo de inúmeros estudos em diversas aplicações, tais como tópicas, orais e parentéricas (Beloqui, Solinís, Rodríguez-Gascón, Almeida, & Prétat, 2016), conforme discutido no capítulo 3.

Estes dois sistemas de transporte são muito semelhantes, contudo diferem na sua constituição ao nível da matriz lipídica. Sendo que as NLC conseguem aprisionar maior quantidade de princípio ativo devido à sua estrutura desorganizada como podemos ver na figura 1.

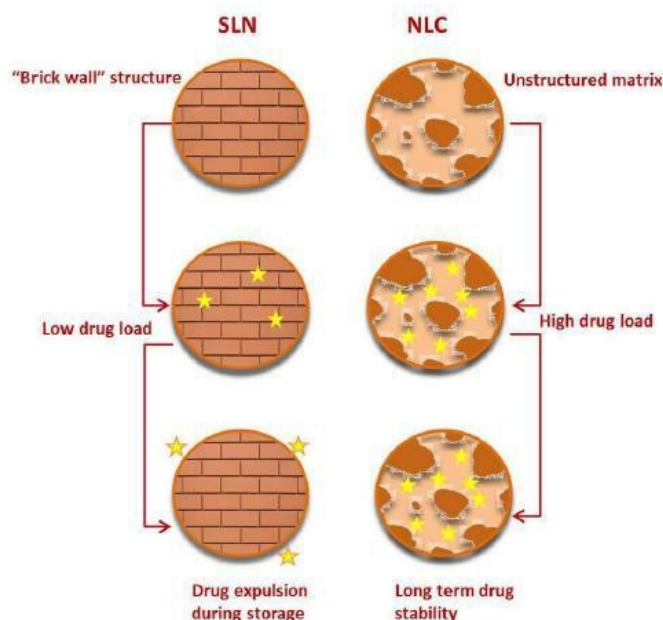


Figura 1: Comparação entre a estrutura das SLN e NLC (Muchow, Maincent, & Muller, 2008).

1.2.3. Conjugado lípido fármaco

O conjugado lípido-fármaco (LDC – *Lipid drug conjugate*) foi desenvolvido de modo a tentar resolver algumas limitações ligadas às SLN, nomeadamente a sua baixa capacidade de veicular fármacos hidrófilos.

Por meio da LDC o fármaco é convertido num conjugado lípido-fármaco insolúvel em água, a partir da sua conjugação com componentes lipídicos, através de ligações covalentes ou simplesmente por formação de um sal (Muchow et al., 2008; Neupane, Sabir, Ahmad, Ali, & Kohli, 2013).

Alguns estudos estão a ser desenvolvidos com o uso de LDC, nomeadamente para veicular fármacos ao cérebro para tratar doenças parasitárias (Olbrich, Gessner, Kayser, & Müller, 2002; Olbrich, Gessner, Schröder, Kayser, & Müller, 2004).

1.3. Lípidos e tensioativos utilizados

O núcleo sólido e líquido lipídico das nanopartículas lipídicas estabiliza-se com tensioativos. Os excipientes usados para fins farmacêuticos devem ser reconhecidos como materiais seguros através da aprovação GRAS (*Generally Recognized As Safe*) e FDA (*Food and Drug Administration*).

De modo a manter a partícula lipídica sólida após administração, o ponto de fusão do lípido das nanopartículas deve exceder a temperatura corporal, ou seja 37°C. Dos lípidos estudados os que apresentam essas características estão especificados nas tabelas 2 e 3. Nestas estão também representados os tensioativos usados na produção (Pizzol et al., 2014).

Como podemos verificar, os lípidos usados para a produção de SLN são muito semelhantes aos lípidos usados para a produção de NLC. Quanto aos excipientes também existem algumas semelhanças, como podemos ver nas tabelas 2 e 3.

O processo de seleção do lípido a usar na matriz lipídica requer a análise de diversos parâmetros, nomeadamente: a capacidade de carga, o uso pretendido, o estado polimórfico na medida em que estruturas perfeitas expulsam mais facilmente as moléculas e estruturas imperfeitas fornecem espaço para aprisionar maior quantidade de moléculas. Outros parâmetros importantes são a miscibilidade, solubilidade do fármaco, estrutura física e química da matriz lipídica, pureza dos lípidos e o ponto de fusão.

Contudo, a escolha do tensioativo não é de desvalorizar, tendo em conta que têm de obedecer a alguns critérios, nomeadamente à isenção de toxicidade, compatibilidade com o organismo, capacidade de produzir o efeito desejado com a quantidade mínima possível, estabilidade e o destino *in vivo*, como por exemplo a utilização do poloxamer, permite um longo tempo de circulação devido à sua capacidade de impedir que seja captado pelo sistema fagocitário. A natureza da matriz lipídica também tem de ser tomada em consideração (K Manjunath, Reddy, & Venkateswarlu, 2005).

Deste modo estudos demonstram que o uso de diferentes lípidos na matriz, e de diferentes concentrações de tensioativos pode alterar a nanopartícula, nomeadamente no seu diâmetro, morfologia e na sua capacidade de encapsulação (Han, Li, Yin, Liu, & Xu, 2008; Pizzol et al., 2014).

Tabela 3: Lípidos e tensioativos usados na preparação de SLN (Nair.R. et al.,2011).

Lípidos	Tensioativos
Triglicéridos: Triestearina Tripalmitina Trilaurina Tricaprina Trimestirina	Fosfolípidos: Lecitina de soja Lecitina de ovo Fosfatidilcolina
Acilglicéridos: Monoesterato de glicerol Palmitoesterato de glicerol	Copolímeros de óxido de etileno/ óxido de propileno: Poloxamer 188 Poloxamer 182 Poloxamer 407 Poloxamina 908
Ácidos gordos: Ácido esteárico Ácido palmítico Ácido decanoico	Copolímeros de sorbitano de óxido de etileno/ óxido de propileno: Polissorbato 20 Polissorbato 60 Polissorbato 80
Ceras: Cetil palmitato	Polímeros de álcool poliéster: Tiloxapol
Complexos cíclicos: Ciclodextrinas	Sais biliares: Ácido glicólico
Gorduras sólidas: Witepsol W 35 Witepsol H 35	Álcoois: Etanol Butanol

Tabela 4: Lípidos e tensioativos usados na formulação de NLC (Beloqui et al., 2016).

Lípido sólido	Lípido líquido	Tensioativo
Palmitoestearato de glicerol Glicerol dibehenato (Compritol® ATO 888) Cetil palmitato Ácido esteárico Tripalmitina	Caprílico/Cáprico Triglicéridos Vitamina E e derivados Lauroil polioxiglicéridos Monoacilglicéridos Lecitina de soja Aqualeno	Polissorbatos Poloxamers (188, 407) Macrogol-15-hidroxi-estearato Estearato de polioxietileno Ácidos gordos

2. Métodos de produção

O processo de preparação das SLN e NLC é realizada a partir de lípidos, emulsificantes e água/solventes. Contudo existem inúmeros métodos de produção, que serão de seguida descritos neste capítulo.

2.1. Método da homogeneização a alta pressão:

A homogeneização a alta pressão (HPN – *High pressure homogenization*) pode ser realizada a frio ou quente, figura 2, e recorre a homogeneizadores que impulsionam o líquido a pressão elevada (100-2000 bar) através de tubos estreito; o líquido por sua vez é submetido a uma velocidade elevada num curto espaço. A elevada tensão de corte e turbulência quebram as partículas, levando à formação destas na escala dos submicrons. No entanto, durante este processo poderá existir um aumento da temperatura (cerca de 10°C por cada 500bar), devido ao alto poder de aceleração e ao seu poder de corte das partículas.

Sendo assim na fase preparatória, o princípio ativo é introduzido por dissolução ou dispersão no conteúdo lipídico líquido (Lasoń & Ogonowski, 2011; Wissing, Kayser, & Müller, 2004).

2.2. Método da homogeneização a quente

Esta técnica é levada a cabo acima do ponto de fusão do líquido, sendo semelhante à homogeneização de uma emulsão.

Na fase de pré-emulsificação temos o lípido líquido e a fase aquosa, que de seguida são dispersas, e colocados num dispositivo de elevado poder de corte, formando uma emulsão O/A que por arrefecimento leva à cristalização do lípido e formação das nanopartículas lipídicas, como podemos ver na figura 2.

É pertinente salientar que a qualidade da pré-emulsão irá afetar a qualidade do produto final.

No entanto este processo tem de ser controlado, dado que se as temperaturas forem muito elevadas irá haver degradação do fármaco e do transportador. Normalmente efetua-se 3 a 5 ciclos a 500-1000bar. Se aumentarmos muito o número de ciclos o tamanho das partículas aumenta devido à energia cinética das mesmas (Lasoń & Ogonowski, 2011; Nair, Kumar, Priya, & Sevukarajan, 2011).

2.3. Método da homogeneização a frio

Esta técnica é semelhante à homogeneização a alta pressão a quente, no entanto difere em alguns passos. Assim sendo o fármaco numa primeira etapa é fundido 5-10°C acima do seu ponto de fusão, de seguida é disperso ou dissolvido no lípido fundido. Numa etapa seguinte a massa fundida de lípido-princípio ativo é arrefecida, através de azoto líquido ou gelo seco. O produto resultante irá ser colocado num moinho de esferas ou num almofariz mecânico.

Na fase final do processo as micropartículas são suspensas numa solução aquosa fria de tensoativo, sendo de seguida homogeneizadas numa sala com condições de temperatura abaixo da temperatura de formação das nanopartículas (Das & Chaudhury, 2011).

Este processo foi desenvolvido com o intuito de solucionar algumas das limitações da homogeneização a quente, tais como: a degradação do princípio ativo pelo calor, a distribuição do princípio ativo para a fase aquosa durante o processo, e a complexidade da fase de cristalização dando origem a múltiplas modificações (Lasoń & Ogonowski, 2011). Assim sendo esta técnica é mais adequadas para princípios ativos hidrófilos ou termolábeis.

Contudo não é possível existir uma anulação por completo da sua exposição a altas temperaturas já que o princípio ativo necessita de ser incorporado no lípido fundido (Das & Chaudhury, 2011).

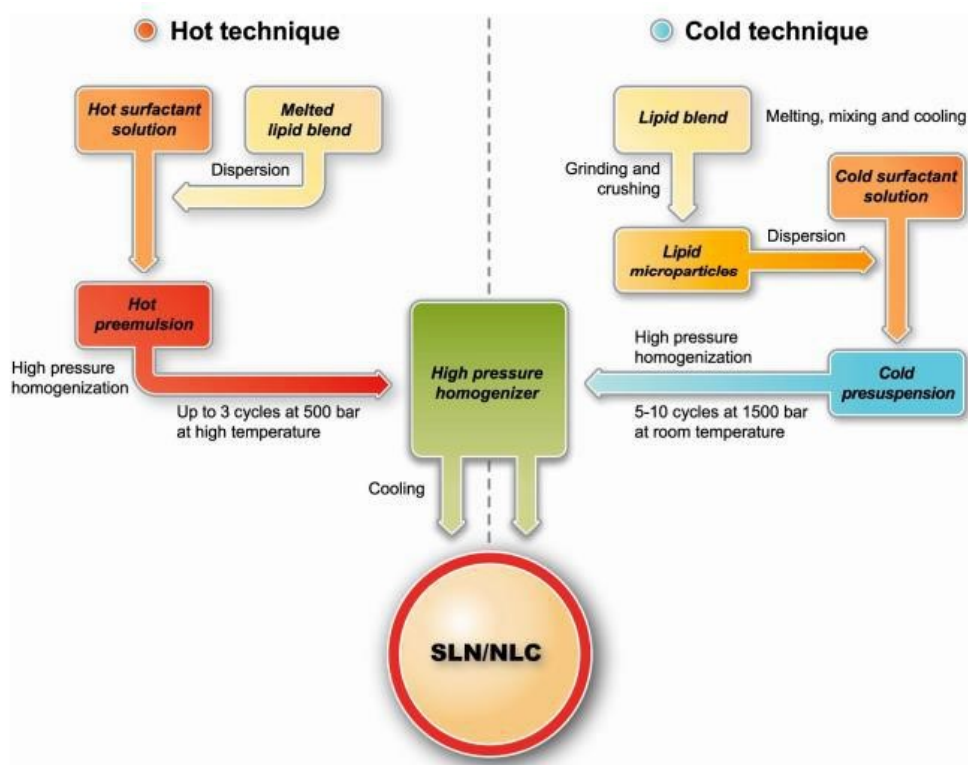


Figura 2: Processo de homogeneização a quente e frio (Svilenov & Tzachev, 2009).

2.4. Método de homogeneização por ultra-sons

O método de homogeneização por ultra-sons é uma técnica amplamente usada na produção de nanopartículas lipídicas (figura 3) uma vez que a primeira parte é semelhante à homogeneização a alta pressão como poderemos observar.

Este método de produção evidencia algumas limitações tais como: uma elevada distribuição do tamanho das partículas, potencial de contaminação por metais devido à utilização de ultrassom, e instabilidade física (possível crescimento dos cristais durante o processo de armazenamento) (Nair et al., 2011). A instabilidade física pode ser melhorada com o recurso ao aumento das concentrações de tensioativo, contudo pode levar a alguns problemas de toxicidade, nomeadamente a nível de administrações parentéricas. A distribuição do tamanho das partículas também poderá ser melhorada, mediante a redução da concentração do lípido, e o aumento da concentração do tensioativo (Wissing et al., 2004).

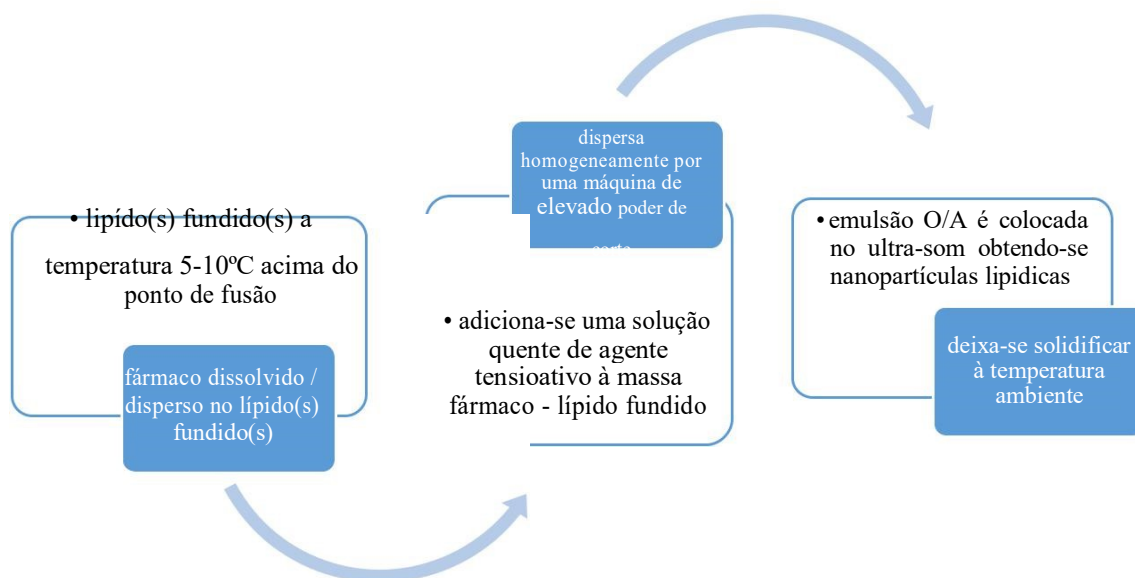


Figura 3: Método de homogeneização por ultra-sons para formação de nanopartículas lipídicas. Adaptado de Wissing et al. (2004)

Uma grande vantagem da homogeneização por ultra-sons prende-se com o facto de o equipamento estar disponível em qualquer laboratório, o que faz com que seja um método facilmente reproduzível e de baixo custo.

2.5. Método de evaporação do solvente/emulsificação

O material lipofílico é dissolvido num solvente orgânico imiscível em água (ex: tolueno, clorofórmio, ciclohexano), posteriormente será emulsificado numa fase aquosa, antes de ser evaporado o solvente sob pressão reduzida, como podemos visualizar na figura 4. Após a evaporação as nanopartículas são formadas por precipitação do lípido no meio aquoso, obtendo-se partículas com tamanho médio de 25 nm (Nair et al., 2011).

Esta técnica apresenta uma vantagem muito importante, uma vez que o calor é evitado, torna-se num bom método para a incorporação de princípios ativos termolábeis. No entanto, poderá surgir problemas relativamente ao solvente usado, dado que poderá existir solvente na mistura final, o que coloca em causa a segurança da mesma (Wissing et al., 2004).

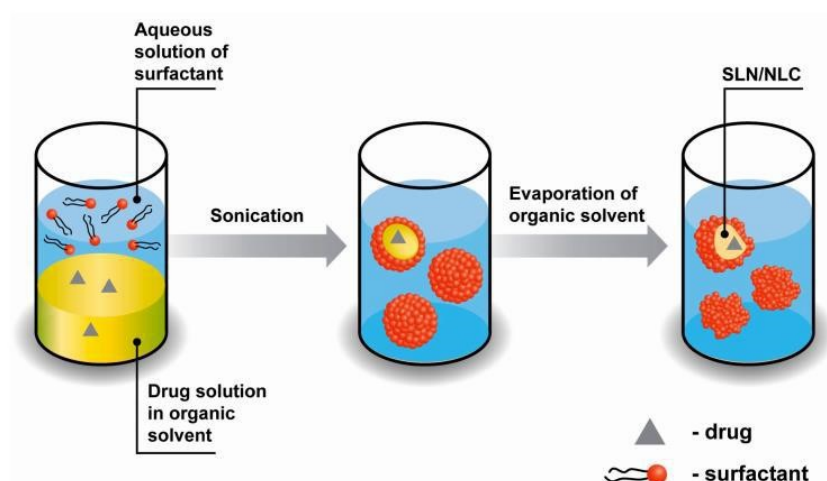


Figura 4: Técnica da evaporação do solvente/emulsificação (Svilenov & Tzachev, 2009).

2.6. Método da microemulsão

As microemulsões são constituídas por dois sistemas de fases, uma interna e outra externa. De modo a obter microemulsões com lípidos no estado sólido, este processo tem de ser efetuado acima da temperatura de fusão do lípido selecionado.

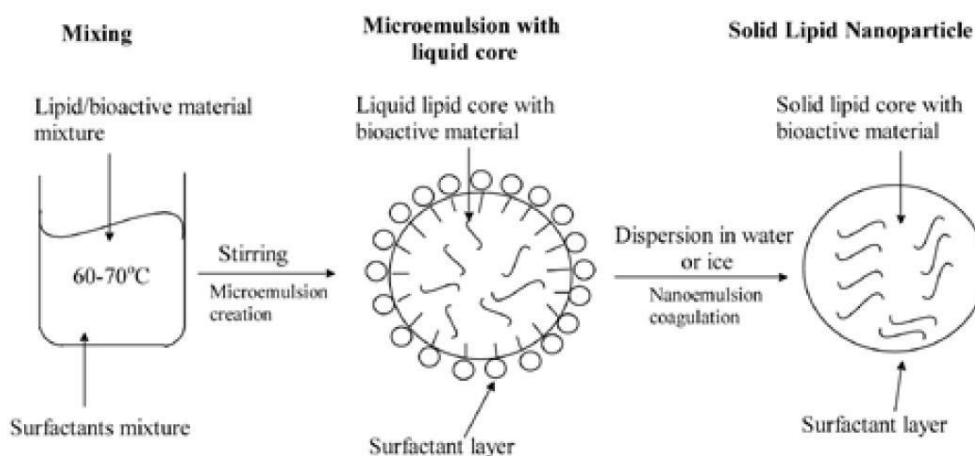


Figura 5: Técnica de microemulsão usada na formulação de SLN (Lasoń & Ogonowski, 2011).

Neste processo temos um lípido com baixo ponto de fusão (ex. ácido esteárico) fundido, e uma mistura x constituída por água, tensioativos e co-tensioativos aquecidos à mesma temperatura que os lípidos fundidos, De seguida mistura-se o lípido fundido com a mistura x, sob condições suaves e, se o processo for bem efetuado, o complexo formado é termodinamicamente estável e transparente.

Por fim, a microemulsão quente é dispersa em água gelada (2-3°C) por agitação mecânica suave, o que irá garantir um tamanho das partículas pequeno por solidificação/precipitação como podemos ver na figura 5 (Gasco, Priano, & Zara, 2009; Lasoń & Ogonowski, 2011).

Os lípidos utilizados podem ser triglicéridos ou ácidos gordos. Os tensioativos mais usados são o polissorbato 20, polissorbato 60 e a lecitina de soja. Os co-tensioativos mais usados são os álcoois como por exemplo o butanol (Lasoń & Ogonowski, 2011).

Relativamente à formulação propriamente dita, a concentração de tensioativo e co-tensioativos são necessários em concentrações mais elevadas, a fim de obter uma formulação mais estável o que, no entanto, poderá gerar problemas a nível regulamentar (Wissing et al., 2004).

2.7. Método de secagem por pulverização

Processo alternativo à liofilização, que visa transformar uma dispersão aquosa de SLN num medicamento (Freitas & Müller, 1998). Este método tem algumas limitações, nomeadamente a agregação das partículas, como consequência das elevadas temperaturas, força de corte e fusão parcial das partículas (Nair et al., 2011). Deste modo Freitas e Muller (Freitas & Müller, 1998) recomendam o uso de lípidos com ponto de fusão superior a 70°C.

2.8. Método do fluido supercrítico

O método que utiliza fluidos supercríticos é vantajosa para os princípios ativos insolúveis em água (Nair et al., 2011). A preparação das SLN/NLC é baseada numa solução de gás saturado, em que normalmente é utilizado o dióxido de carbono, de modo a separar os componentes.

Algumas vantagens inerentes a este método residem na possibilidade de evitar a utilização de solventes, as partículas obtidas em pó seco em vez de suspensão, e as condições de pressão e temperatura serem controlados. Uma desvantagem relevante deste método é o facto de ser dispendioso (Yadav et al., 2013).

2.9. Método da dupla emulsificação

O método da dupla emulsificação é baseado no método da emulsificação-evaporação do solvente. Numa primeira fase o princípio ativo é dissolvido numa solução aquosa, sendo futuramente emulsificado no lípido fundido, juntamente com um estabilizador (ex.: gelatina). Posteriormente este estabilizado primário, é disperso numa fase aquosa contendo um estabilizador hidrófilo (Nair et al., 2011).

Este método tem sido seleccionado para veicular fármacos hidrófilos. Um dos parâmetros a ser vigiado reside no fármaco encapsulado, sendo que este terá que ser conjugado com um tensioativo adequado, de modo a impedir que este se distribua na fase aquosa externa da dupla emulsão w/o/w, durante o processo de evaporação do solvente (Das & Chaudhury, 2011).

2.10. Método da emulsificação-difusão do solvente

A técnica da emulsificação-difusão tem como base a utilização de solventes parcialmente miscível em água, podendo ser efetuada tanto na fase aquosa como na fase oleosa.

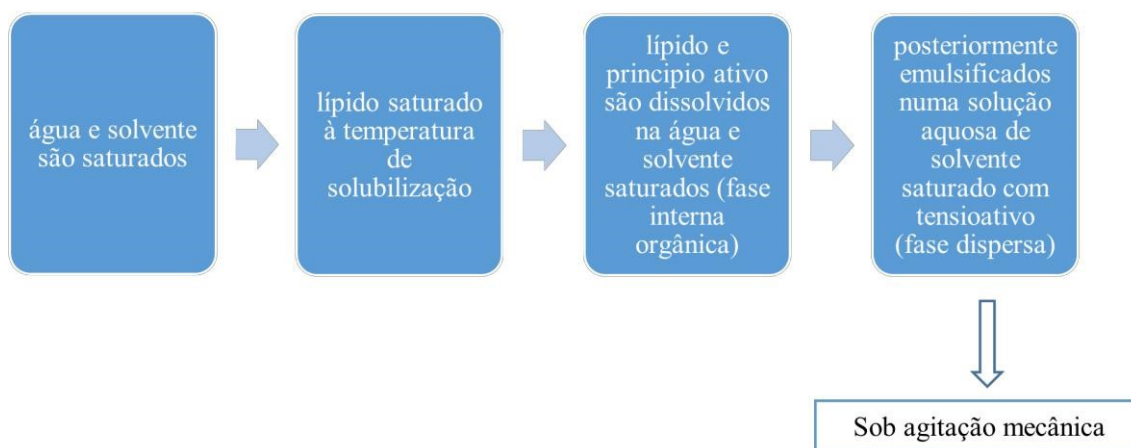


Figura 6: Processo da técnica emulsificação/difusão do solvente.
Adaptado de (Nair et al., 2011)

Após a formação da emulsão óleo em água (etapa 3 da figura 6) terá que ser adicionada uma solução aquosa com tensioativo saturada de solvente, de maneira a permitir a difusão do solvente na fase contínua, e posterior agregação do lípido em nanopartículas. Assim sendo, a agitação mecânica é um passo muito importante no sucesso da técnica. O solvente terá que ser eliminado por liofilização ou ultrafiltração, devido aos problemas inerentes à utilização de solventes orgânicos (Das & Chaudhury, 2011; Nair et al., 2011).

Tabela 5: Vantagens e desvantagens do método emulsificação/difusão do solvente (Nair et al., 2011).

Vantagens	Desvantagens
Elevada reprodutibilidade e distribuição do tamanho das partículas estreita	Fácil difusão do princípio ativo na fase aquosa, o que leva a um baixo poder de encapsulação
Fácil implementação, amplificação do processo	Necessidade da dispersão de nanopartículas lipídicas estar concentrada e organizada
Produto eficiente e versátil	
Pouco <i>stress</i> físico	
Evita o calor	

2.11. Método da injeção do solvente

A injeção do solvente processa-se através de uma solução aquosa que detém um lípido precipitado, como demonstrado na figura 7, em que posteriormente é injetado um solvente miscível em água, e as nanopartículas são formadas através da precipitação por saturação (Horiguchi & Takeshita, 2003). O uso de tensioativo irá auxiliar na produção das gotículas de lípido, bem como na estabilização das nanopartículas lipídicas (Nair et al., 2011).

Aquando da sua execução alguns parâmetros terão que ser controlados, nomeadamente: o tamanho das partículas, devido à possibilidade de ser influenciado pelo solvente injetado, concentração do lípido, quantidade injetada e viscosidade. Contudo o passo mais relevante deste processo é a difusão do solvente (Horiguchi & Takeshita, 2003).

Este método possui inúmeras vantagens, como a produção e manuseamento fácil (Nair et al., 2011) Contudo apresenta desvantagens, nomeadamente o uso de solventes orgânicos que poderá limitar algumas vias de administração (Das & Chaudhury, 2011; Horiguchi & Takeshita, 2003).

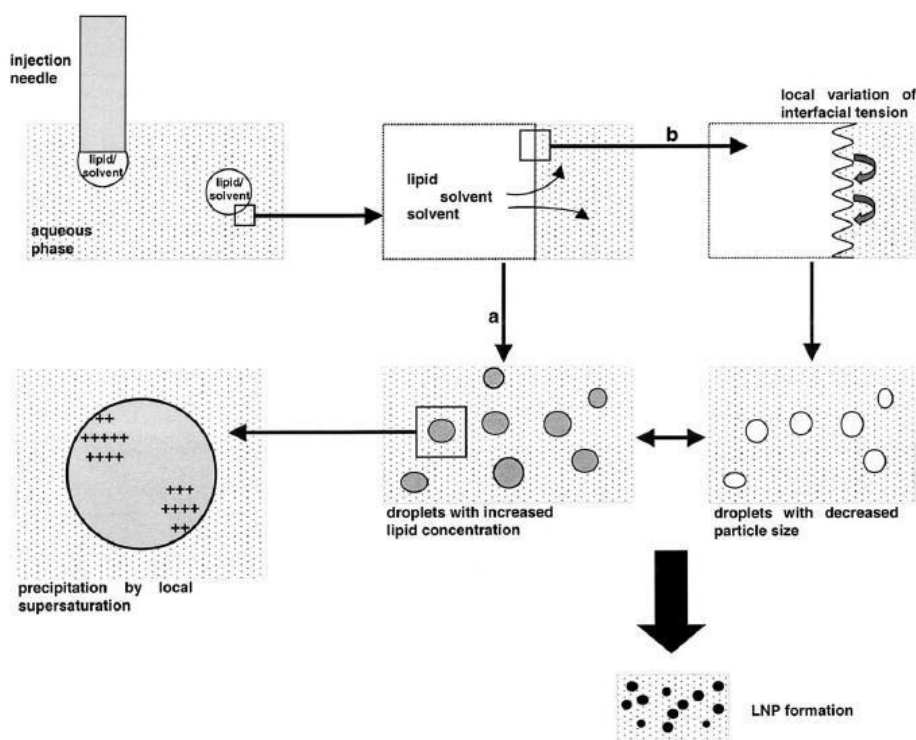


Figura 7: Técnica da injeção do solvente (Horiguchi & Takeshita, 2003).

2.12. Método contador de membrana

O método de contador de membrana baseia-se numa fase lipídica que é pressionada acima do ponto de fusão do lípido através dos poros da membrana, de seguida a fase aquosa é impulsionada tangencialmente no interior da membrana, e consequentemente as nanopartículas lipídicas são obtidas através da circulação da fase aquosa, à saída dos poros, como podemos observar na figura 8.

A fase aquosa é agitada através de um impulsor, e a fase lipídica é colocada num recipiente pressurizado equipado com um manómetro ligado a uma garrafa de azoto e à membrana do lado do lado do filtrado (Charcosset, El-Harati, & Fessi, 2005; Parhi & Suresh, 2012).

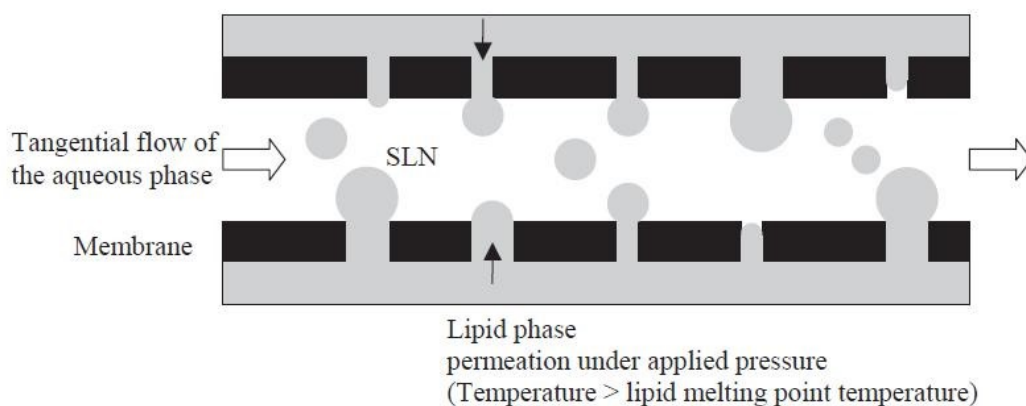


Figura 8: Esquema de preparação de nanopartículas lipídicas pelo processo de contador de membrana (Charcosset et al., 2005).

O sucesso deste método depende de vários parâmetros, nomeadamente da velocidade de fluxo da fase aquosa, da pressão da fase lipídica, da temperatura da fase aquosa e lipídica, e do tamanho dos poros.

As vantagens deste processo residem na facilidade de utilização, controlo do tamanho das nanopartículas e versatilidade (Charcosset et al., 2005).

3. Caracterização das nanopartículas lipídicas

As propriedades físico-químicas, tais como tamanho, polidispersão e a forma das partículas, são importantes determinar para compreender como se irão comportar as formulações de SLN e NLC.

É importante caracterizar as partículas, dado que dependendo das suas características a sua biodistribuição será diferente (Basu, Garala, Bhalodia, Joshi, & Mehta, 2010). Estes critérios também são importantes e é de denotar que afetam a taxa de libertação do fármaco, a mucoadesão, adsorção celular de água e a troca de tampão entre o interior e o exterior da nanopartículas (Azhar, Bahari, & Hamishehkar, 2016).

3.1. Tamanho da partícula

Este parâmetro é analisado sobretudo através de três técnicas, a difração a laser, a dinâmica de espalhamento de luz, e a espectrofotometria de correlação de fótons (Das & Chaudhury, 2011; Kathe, Henriksen, & Chauhan, 2014).

A difração a laser mede a dispersão da luz laser através da partícula, e a dinâmica de espalhamento de luz mede a variação do espalhamento da intensidade, quando as partículas estão em movimento Browniano, e correlaciona com o tamanho da partícula. Estas técnicas não medem o tamanho diretamente, estimam através de correlações obtidas na amostra estudada (Kathe et al., 2014; Vásquez, 2008).

Estas técnicas podem gerar algumas falhas, nomeadamente se existirem agregados de partículas, o que irá conduzir a erros. Consequentemente, de modo a prever estes erros um parâmetro importante nestas medições é o desvio padrão, que tem como função estimar o erro envolvido ao longo das medições (Kathe et al., 2014).

3.2. Potencial zeta

O potencial zeta é a carga produzida à superfície da partícula que estas adquirem no seu estado disperso. Esta carga pode ser positiva ou negativa, o que se irá traduzir na sua capacidade de atração ou repulsão numa suspensão aquosa. Para a caracterização das SLN são utilizados os métodos de espalhamento de luz espectralométrica e a determinação eletroacústica, sendo a primeira a mais utilizada (Kathe et al., 2014; Xu, 2008).

A análise deste valor é essencial visto que está relacionado com a estabilidade, com a adsorção da superfície (Xu, 2008) e a interação com os eletrólitos (Vásquez, 2008).

3.3. Índice de polidispersão

É importante conhecer a magnitude da dispersão do tamanho das partículas e para isso a medida usada é o índice de polidispersão (PI - *Polydispersity index*). Quanto menor o valor, mais monodispersa está a dispersão de nanopartículas. A maioria dos investigadores aceita valores de $PI < 0,3$. Este índice pode ser medido através da espectralometria de correlação de fótons (Das & Chaudhury, 2011).

3.4. Morfologia

As técnicas utilizadas para determinar a morfologia das nanopartículas lipídicas são: microscopia eletrónica de varrimento (SEM - *Scanning electron microscopy*), microscopia eletrónica de transmissão (TEM - *Transmission electron microscopy*), microscopia de força atómica (AFM - *Atomic force microscopy*).

A microscopia eletrónica de varrimento utiliza a transmissão de eletrões através da superfície da amostra, enquanto que a microscopia eletrónica de transmissão utiliza eletrólitos.

3.5. Eficiência de encapsulação e capacidade de encapsulação

A eficiência de encapsulação de um fármaco em SLN ou NLC, irá depender da sua capacidade de dissolver/dispersar o lípido.

Existem duas formas de calcular a quantidade de fármaco que se consegue encapsular nestes sistemas de veiculação. A primeira é a eficiência de encapsulação que é expressa em percentagem, e resulta de um quociente entre a quantidade de fármaco incorporado nas partículas lipídicas e a quantidade total de fármaco existente na formulação (equação 1) (M. K. Shah, Madan, & Lin, 2014).

$$\frac{\text{Quantidade de fármaco adicionado} - \text{Quantidade de fármaco não encapsulada}}{\text{Quantidade de fármaco adicionado à formulação}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

A segunda, é a capacidade de encapsulação do fármaco, que é influenciada por duas variáveis, o lípido e o fármaco a incorporar. Assim sendo, se a molécula for lipofílica tende a distribuir-se preferencialmente nas partículas lipídicas, e consequentemente maior será a eficácia de aprisionamento. Contudo se as moléculas forem hidrófilas, têm tendência a distribuir-se na fase aquosa.

Tendo em conta o que acima foi mencionado surgiu uma fórmula expressa em percentagem, que resulta no quociente entre a quantidade de fármaco incorporada nas partículas lipídicas e a quantidade total de ingredientes envolvidos na formulação (equação2) (N. V. Shah et al., 2016).

$$\frac{\text{Quantidade de fármaco incorporado nas moleculas lipídicas}}{\text{Quantidade de fármaco+ excipientes adicionados à formulação}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

3.6. Incorporação de fármacos em nanopartículas lipídicas sólidas

Com o intuito de aumentar a capacidade de encapsulação das nanopartículas lipídicas, surgiu o processo de modificação das SLN através da incorporação de um lípido líquido

na matriz sólida da nanopartícula, formando os transportadores lipídicos nanoestruturados, NLC que podem ser de três tipos.

Tipo I - Matriz altamente imperfeita

Neste processo utiliza-se uma concentração de lípido líquido inferior à concentração de lípido sólido, posteriormente misturados para formar uma nanoemulsão O/A que, quando arrefecida, forma partículas sólidas cristalizadas à temperatura ambiente, com uma matriz lipídica altamente desorganizada e imperfeita, resultante dos diferentes tamanhos da cadeia de ácidos gordos, e das misturas dos diversos triglicéridos. Este processo proporciona ao fármaco maior espaço de encapsulação, o que é uma grande vantagem (Shidhaye, Vaidya, Sutar, Patwardhan, & Kadam, 2008).

Tipo II - Múltiplos tipos

No tipo II existe uma concentração elevada de lípido líquido; aquando do processo de cristalização existe separação de fases, contudo num intervalo de temperaturas estreito em que exista miscibilidade dos lípidos, formando nanocompartimentos lipídicos.

Uma das utilidades deste processo surge quando os lípidos não têm solubilidade nos princípios ativos usados. Desta forma, adiciona-se lípidos líquidos em quantidade elevada com o intuito de prevenir a fuga do fármaco da matriz sólida.

Tipo III - Estado amorfo

No tipo III existe uma mistura controlada de lípidos, com a finalidade de formar novas partículas lipídicas no interior do lípido sólido (figura 9). Contudo, deve ser preservado o estado amorfo (Purohit, Nandgude, & Poddar, 2016).

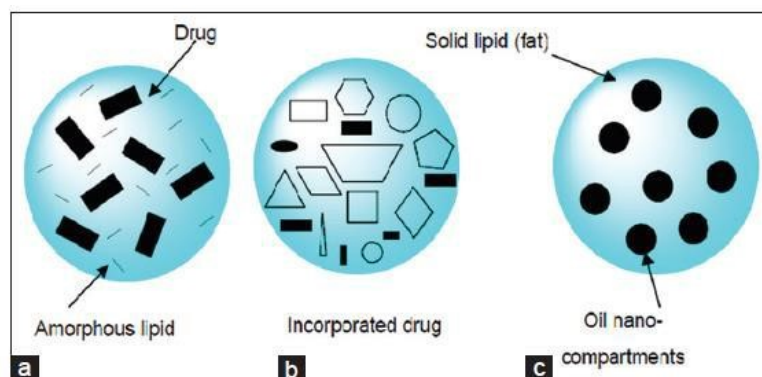


Figura 9: Tipos de transportador lipídicos nanoestruturados(Purohit et al., 2016).

4. Fármacos incorporados em nanopartículas lipídicas

4.1. Via oral

A necessidade de desenvolver novos sistemas terapêuticos reside no facto de alguns princípios ativos levantarem alguns problemas na sua forma convencional. Nomeadamente na via oral, têm surgido entraves em algumas terapêuticas sobretudo devido à baixa solubilidade, e à reduzida biodisponibilidade de vários princípios ativos, levando a resultados comprometedores e a tratamentos ineficazes.

A via oral é a forma mais cómoda de administração de uma terapêutica a um doente, é aquela à qual tem mais adesão, desta forma é a via de administração por excelência, e consequentemente a mais trabalhada. De modo a permitir que todos os princípios ativos e tratamentos possam ser por aí levados a cabo, o que é uma tarefa difícil devido às propriedades intrínsecas de cada molécula e às barreiras que o nosso próprio organismo coloca.

A nanomedicina tem um papel importante a desenvolver, no aparecimento de novas estruturas que melhorem o sistema de veiculação dos princípios ativos e aniquilar algumas barreiras que o nosso organismo coloca às formas farmacêuticas convencionais. As nanopartículas lipídicas foram colocadas como uma forma promissora de incorporar princípios ativos e tentar resolver as barreiras existentes.

Embora inúmeros estudos tenham já sido desenvolvidos, algumas limitações persistem. Estes novos sistemas de veiculação de fármacos têm relatado alguns problemas nomeadamente a eficácia da encapsulação ao longo do tempo, o tamanho das partículas, a capacidade de superar a barreira intestinal e pancreática. Bem como a escolha do tensioativo faz variar o comportamento do fármaco incorporado nas nanopartículas lipídicas (Taylor, Tanna, & Sahota, 2010).

4.1.1. Exemplos de moléculas veiculadas

Tabela 6: Fármacos incorporados em sistemas de veiculação lipídicos para administração oral

Molécula	Biodisponibilidade do fármaco livre	Método de Preparação das nanopartículas	Sistema de veiculação	Resultados	Referência
Carvedilol	25%	Homogeneização a alta pressão a quente	SLN	Aumento da biodisponibilidade	(M. K. Shah et al., 2014)
Insulina	Baixa	Método difusão do solvente	SLN	Efeito hipoglicemiante comprovado	(Zhang, Zhang, Zhou, & Lv, 2012)
Miconazol	Baixa	Método de ultra-sons	SLN	Aumento da biodisponibilidade (2,5%)	(Aljaeid & Hosny, 2016)
Sildenafil	40%	Método de Homogeneização a quente Método de ultra-sons	SLN	Aumento da biodisponibilidade (1,87%)	(Hosny & Aljaeid, 2014)
Raloxifeno	2%	Método difusão do solvente	NLC	Aumento da biodisponibilidade (3,75%)	(N. V. Shah et al., 2016)
Rosuvastatina	20%	Método de ultra-sons	NLC	Aumento da biodisponibilidade (5,4%)	(Rizwanullah, Amin, & Ahmad, 2016)
Sirolimus	17%	Homogeneização a alta pressão	NLC	Aumento da biodisponibilidade (1,82%)	(Yu et al., 2016)

A necessidade de recorrer a sistemas de veiculação para a administração oral de moléculas reside na baixa solubilidade em água demonstrada pelas mesmas (ex.: miconazol, rosuvastatina e sirolimus), um efeito de primeira passagem extenso que resulta numa baixa biodisponibilidade (ex.: carvedilol, raloxifeno e sildenafil) e degradação enzimática no estômago (ex.: insulina).

O tempo de semivida curto e a necessidade de assegurar concentrações plasmáticas dentro da janela terapêutica, leva a que haja administrações sucessivas e consequentemente a numerosos efeitos adversos (ex: sildenafil).

Como demonstrado na tabela 6, o recurso a estes novos sistemas de veiculação resulta num aumento significativo da biodisponibilidade face aos sistemas convencionais. É de salientar o raloxifeno e a rosuvastatina dado que demonstraram uma melhoria significativa na biodisponibilidade. De acordo com o que foi exposto a escolha do sistema de veiculação e o método de preparação, bem como as matérias-primas usadas serão a chave para o sucesso deste sistema promissor.

4.2. Via ocular

Os colírios são as formas farmacêuticas mais utilizadas para o tratamento oftálmico. No entanto, estas estão associadas a algumas limitações farmacocinéticas e farmacológicas, nomeadamente com a frequência de administração, efeitos sistémicos nocivos, o não cumprimento da terapêutica por parte do paciente, baixa biodisponibilidade, nomeadamente devido ao lacrimejar que diminui o tempo de contacto. Assim sendo, a veiculação ocular de fármacos torna-se um desafio, visto que as formas convencionais têm dificuldade em atravessar as barreiras fisiológicas entre a superfície do olho e as estruturas oculares internas.

4.2.1. Exemplos de fármacos veiculados

A necessidade de desenvolver sistemas de veiculação para moléculas utilizadas no tratamento ocular, deve-se sobretudo a limitações de formulação. Uma das moléculas utilizadas nestas patologias é o voriconazol, este apresenta uma solubilidade aquosa dependente do pH, daí ser um ótimo candidato a estes sistemas. Existem outras moléculas como é o caso da pilocarpina que apresenta curta duração de ação, e se existir sobredosagem pode causar miopia e miose. É de salientar também a indometacina que a sua fraca solubilidade e estabilidade em meio aquoso pode afetar a terapêutica.

No caso do flurbiprofeno sendo um anti-inflamatório não esteroide, normalmente usado para a prevenção da infeção ocular, relacionado com a cirurgia ocular às cataratas, bem como na prevenção da miose induzida no decurso desta. As vantagens do seu uso face à dos anti-inflamatórios esteroides reside na diminuição da resposta imunológica, na formação de cataratas induzida por estes, devido ao aumento da pressão intraocular e na inibição da re-epitelização.

Posto isto e como podemos observar, na tabela abaixo, o uso destes novos sistemas de veiculação ajuda a ultrapassar as limitações apresentadas e dessa forma aumenta consideravelmente a biodisponibilidade, tendo sempre em conta reportar o mínimo de efeitos adversos.

Tabela 7: Fármacos veiculados em nanopartículas lipídicas para administração ocular

Molécula	Sistema de veiculação	Técnica de preparação	Resultados	Referência
Voriconazol	SLN	Microemulsão	Aumento da biodisponibilidade	(Khare, Singh, Pawar, & Grover, 2016)
Pilocarpina	SLN	Evaporação do solvente	Aumento da biodisponibilidade	(Lütfti & Müzeyyen, 2013)
Indometacina	SLN	Homogeneização	Aumento da biodisponibilidade 3,0 vezes, em comparação com os sistemas coloidais	(Hippalgaonkar, Adelli, Hippalgaonkar, Repka, & Majumdar, 2013)
Flurbiprofeno	NLC	Ultra-sons	Aumento da biodisponibilidade	(Gonzalez-Mira, Egea, Garcia, & Souto, 2010)

Tabela 8: Matérias-primas utilizadas na formulação de algumas moléculas

Molécula	Eficiência de encapsulação	Matérias-primas	Referencia
Pilocarpina	85%	ERS 100 Tween 80 Cloreto de benzalcónio	(Lütfti & Müzeyyen, 2013)
Indometacina	72%	Compritol 888 Tween 80 Polaxamer 88	(Hippalgaonkar et al., 2013)
Voriconazol	84,25%	Ácido esteárico Carbopol 934 Tween 80	(Khare et al., 2016)

A escolha das matérias-primas é um passo muito importante, e que pode tornar limitativo o sucesso da veiculação. Tendo em conta que existe numerosas ofertas, é importante realçar algumas particularidades interessantes na formulação de pilocarpina, nomeadamente o uso de carbopol 934, a sua função de tensioativo deve-se ao seu papel de agente de libertação controlada, aumentando o tempo de resistência pré-corneal, evitando efeitos adversos. Estas propriedades irão conferir à formulação um aumento do seu tempo de ação, o que irá diminuir a frequência de administração (Khare et al., 2016).

Na tabela 8 podemos observar o uso de Tween 80 em todas as formulações selecionadas, esta escolha deve-se ao seu perfil não-irritante, desta forma ter sido utilizado como tensioativo em todas elas. É importante frisar que cada molécula tem solubilidades diferentes, e apetências diferentes para as diferentes matérias-primas, deste modo o seu índice de encapsulação também irá variar.

O perfil de veiculação dos fármacos também é importante. No voriconazol o sistema de veiculação adquiriu um comportamento bifásico, ou seja no início a molécula sofre uma desencapsulação brusca, e de seguida torna-se sustentada, neste caso até as 12 h seguintes. Este perfil torna-se vantajoso tendo em conta que o utente não necessita de aplicar tantas vezes, o que irá melhorar a adesão à terapêutica.

Uma das problemáticas inerentes a estes sistemas é a sua estabilidade. A pilocarpina em condições de temperatura e humidade controladas apresentou uma desencapsulação de cerca de 10%.

Uma alternativa de conservação a ser estudada seria a liofilização, com posterior reconstituição aquando da sua utilização (Khare et al., 2016). No entanto esta alternativa pode ajudar a estabilizar a formulação mas também pode afetar a qualidade do produto final. Na figura 10 estão representadas quatro formulações, em que em todas elas após liofilização, se verificou um aumento significativo do tamanho da partícula, o que resultar num compromisso da sua ação terapêutica.

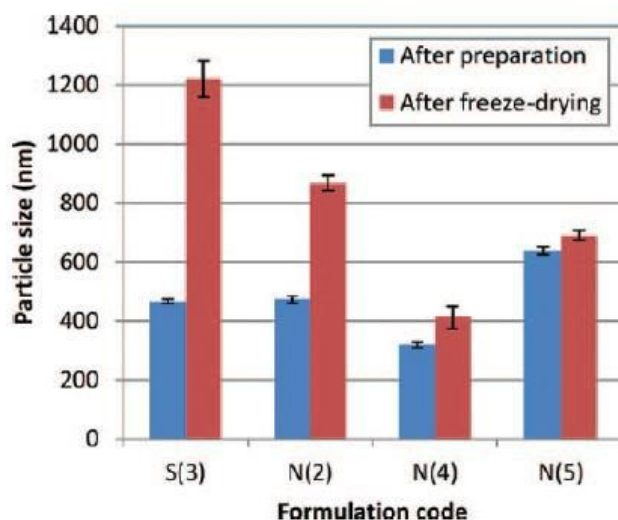


Figura 10: O uso de liofilização em diferentes amostras e o seu efeito no tamanho da partícula (Seyfoddin & Al-Kassas, 2013).

A escolha da nanopartícula lipídica a utilizar é um parâmetro igualmente muito importante e limitante no sucesso da formulação. A molécula aciclovir foi submetida a dois sistemas de veiculação as SLN e NLC. A NLC obteve um melhor perfil de penetração na córnea bem como uma quantidade mais elevada de encapsulação da molécula (Seyfoddin & Al-Kassas, 2013).

4.3. Via transdérmica

O tratamento de patologias dermatológicas tópicas apresenta vantagens face à terapêutica oral e parentérica, sendo que níveis elevados de princípio ativo podem ser aplicados no local da doença e os efeitos adversos serão menores face às duas vias mencionadas.

Os princípios ativos e os veículos utilizados são os responsáveis pela sua distribuição ao longo das camadas, sendo que ainda se trata de um desafio determinar e controlar a quantidade exata de substâncias que chega às diversas camadas da pele.

As nanopartículas lipídicas para além de estarem a ser estudadas com fins terapêuticos, também estão a ser estudadas com carácter preventivo. Com intuito terapêutico, temos

patologias como a psoríase, acne e inflamações; como caráter preventivo está a ser investigada para diminuir os efeitos secundários associados a algumas terapêuticas, nomeadamente anti-inflamatórios não esteroides no tratamento tópico do reumatismo.

Os grupos terapêuticos explorados com aplicações dermatológicas são os glucocorticoides, retinoides, antimicóticos e inibidores da COX -2 (Jana Pardeike, Hommoss, & Müller, 2009).

O processo de libertação tópica do princípio ativo inicia-se com a difusão. De seguida há degradação das partículas lipídicas no organismo, sendo que a sua libertação do princípio ativo é inversamente proporcional ao quociente de partição do mesmo. Contudo a área de superfície influencia a libertação das partículas lipídicas, visto que, se o tamanho das partículas são pequenas, a superfície de contacto é maior, logo a quantidade de fármaco libertada é maior.

A libertação lenta do fármaco pode ser conseguida, se este se apresentar disperso na matriz lipídica de forma proporcional.

Os fatores que afetam a libertação do princípio ativo são: o tamanho da partícula, a matriz lipídica, o tensioativo, o tipo e a forma como o fármaco é encapsulado (Purohit et al., 2016).

4.3.1. Tretinoína

A tretinoína é um metabolito da vitamina A frequentemente utilizada no tratamento tópico de inúmeras doenças proliferativas e inflamatórias. Apesar do seu perfil interessante a sua aplicação é muito limitada, dado que detém algumas desvantagens tais como: provoca irritação na pele, baixa solubilidade em água, instabilidade na presença de ar, luz e calor.

Um dos efeitos adversos da terapêutica reportada com o uso de tretinoína é o aparecimento de irritações cutâneas, assim sendo um grupo de investigadores trataram uma amostra de coelhos com tretinoína comercial e tretinoína veiculada em SLN, posteriormente utilizaram o teste de Draize, para determinar o grau de eritema existente.

Tabela 9: Critérios do estudo apresentado (K. A. Shah, Date, Joshi, & Patravale, 2007)

Teste de Draize	Grupos de coelhos
Ausência de eritema (0)	Controlo (grupo 1)
Ligeiro eritema (1)	Uso de creme comercializado com tretinoína (grupo 2)
Eritema ligeiramente moderado (2)	SLN sem tretinoína (grupo 3)
Eritema moderado (3)	SLN com tretinoína 0,05% (grupo 4)
Eritema grave (4)	

Os coelhos foram analisados às 24h, 48h e 72h, sendo que as imagens da figura 11 mostram a análise após 24 horas. A imagem A mostra o grupo controlo, imagem B representa o coelho em que utilizaram tretinoína comercial, após 24 horas apresentava irritações nível 3, e passado 48h irritações nível 4. A imagem C representa o coelho tratado com SLN sem tretinoína, deste modo observaram irritação nível 0. A imagem D apresenta o uso de SLN com tretinoína e observaram irritação nível 1 após 48 horas, antes desse tempo não havia qualquer irritação.

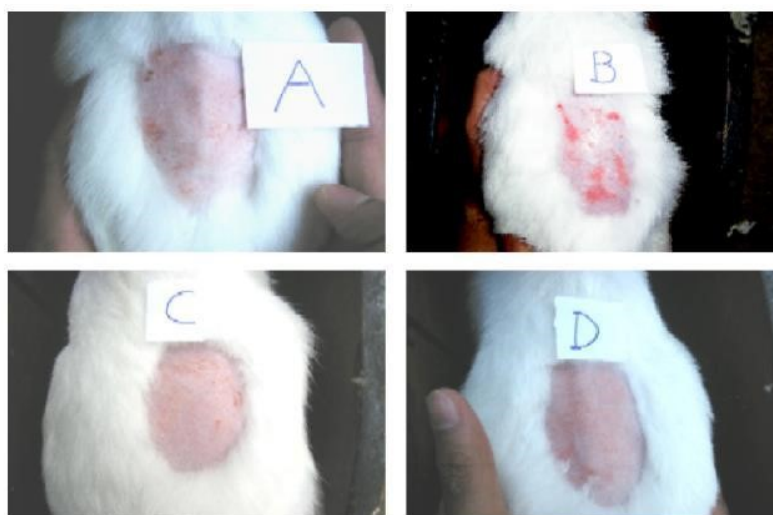


Figura 11: Observação de diferentes grupos de coelhos após terapêutica com tretinoína (K. A. Shah et al., 2007).

Concluindo o que acima foi referido o uso de nanopartículas lipídicas sólidas demonstrou uma notável melhoria nos episódios eritematosos, comparado com o creme comercializado.

4.3.2. Doxorrubicina

A doxorrubicina é um fármaco antineoplásico muito utilizado para o tratamento de tumores sólidos tais como cancro da mama, pulmão e pele. Contudo muitos efeitos adversos advém desta terapêutica, nomeadamente alopecia, mielossupressão, ulcerações orais e toxicidade cardíaca.

O uso das nanopartículas foi considerado tendo em conta que apresenta um bom perfil de penetração no estrato córneo, sendo responsável por prevenir a penetração de produtos químicos na pele.

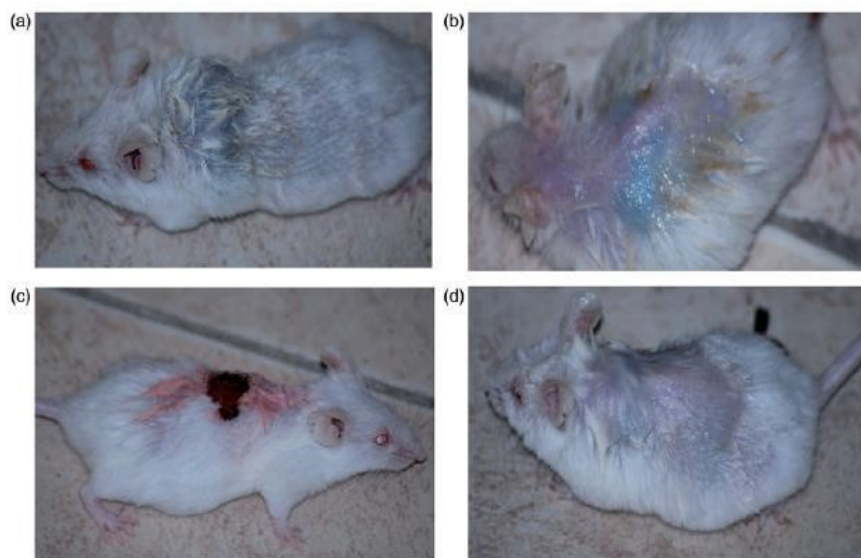


Figura 12: Crescimento tumoral dos ratos em que a) indução tumoral, b) SLN sem DOX, c) DOX sem SLN, d) DOX-SLN
(Tupal, Sabzichi, Ramezani, Kouhsoltani, & Hamishehkar, 2016).

Foram utilizados ratos com cancro de pele, como demonstrado na figura 12; o grupo tratado com SLN contendo doxorrubicina demonstrou uma visível melhoria, face aos restantes grupos, bem como uma boa penetração no estrato córneo (Tupal et al., 2016).

4.4. Via inalatória

A administração pulmonar é dos campos de elevado interesse tendo em conta que, não só podemos tratar doenças das vias aéreas como veicular fármacos à circulação sistémica, sobretudo aqueles que apresentam baixa solubilidade em água. Uma das vantagens do pulmão ser um bom local de aplicação é a sua extensa área de superfície, cerca de 100m². A membrana do epitélio é permeável e extensamente vascularizada e, sendo assim, existe não só uma rápida absorção de princípios ativos solúveis e permeáveis, como também dos que não o são.

As nanopartículas lipídicas de uso pulmonar têm de obedecer a algumas exigências, nomeadamente: biocompatibilidade, esterilidade, isotonia de cerca de 300 mOsmol/kg e pH no intervalo de 3-8,5 (Weber, Zimmer, & Pardeike, 2013).

A curcumina é um composto polifenólico que advém da *curcuma longa* uma planta que cresce na Índia, China e Sudoeste Asiático. Ultimamente têm existido inúmeros estudos que mostram a sua potencial atividade terapêutica em doenças crónicas respiratórias como a asma. Consequentemente suscitou interesse em ser veiculada em SLN devido à sua rápida metabolização e fraca biodisponibilidade.

O facto de alguns microrganismos serem parasitas intracelulares, como o *M. tuberculosis*, leva a uma especial atenção, porque estes residem e multiplicam-se dentro das células dos fagócitos mononucleares, e como as nanopartículas lipídicas são absorvidas pelo sistema fagocítico mononuclear (MPS) e se acumulam nos macrófagos, são transportadores ideais.

Os princípios ativos inalados com o intuito de tratar patologias pulmonares têm vantagem sob a via oral e parentérica, tendo em conta que estes são depositados no local de ação, o que leva a um efeito mais rápido mas o tamanho das partículas irá determinar a área atingida. O montelucaste, tabela 10, foi um dos fármacos veiculado em NLC e

observou-se um aumento da sua biodisponibilidade e uma liberação sustentada durante 12 h.

O celecoxib, princípio ativo usado em patologias pulmonares, apresenta uma baixa solubilidade em água, bem como instabilidade em aerossóis o que levou à sua incorporação em NLC, tendo em conta que estas proporcionam maior retenção e liberação, obteve-se um aumento de biodisponibilidade, liberação sustentada durante 6h e uma boa deposição alveolar em ratos.

O itraconazol tem um espectro de ação contra bolores, leveduras e dermatófitos, causadores de infecções oportunistas, e como o pulmão é uma porta de entrada, a veiculação de itraconazol em nanopartículas para uso inalatório tornou-se interessante.

A eficiência de encapsulação (EE) dos princípios ativos mencionados apresentam valores elevados o que indica que serão bons candidatos a veicular através deste sistema.

Tabela 10: Fármacos veiculados para administração por via inalatória.

Molécula	EE (%)	Veículo	Método de produção	Resultados	Referência
Curcumina	75%	SLN	Injeção do solvente	Aumento do efeito anti-inflamatório Aumento da biodisponibilidade	(Wang et al., 2012)
Rifabutina	89.9%	SLN	Homogeneização a alta pressão a quente	Facilmente sinalizadas pelos monócitos humanos	(Gaspar et al., 2016)
Montelukaste	95%	NLC	Ultrassom	Aumento da biodisponibilidade	(Patil-Gadhe, Kyadarkunte, Patole, & Pokharkar, 2014)
Celecoxib	90%	NLC	Homogeneização a quente	Aumento da biodisponibilidade	(Patlolla et al., 2011)
Itraconazol	98,75%	NLC	Homogeneização de alta pressão a quente	Partículas estáveis durante a nebulização	(J. Pardeike et al., 2011)

4.5. Via Parentérica

A administração oral por vezes não é possível devido à rápida degradação enzimática no trato gastro intestinal o que, no entanto, pela via intravenosa também pode ocorrer. Outro problema é a frequência de administração e, assim sendo, uma das alternativas serão os sistemas de veiculação lipídicos, que poderão oferecer algumas vantagens devido à sua libertação controlada e ao seu tamanho, que possibilita serem injetados por via intravenosa, intramuscular e subcutânea (Marcato, 2009; Üner & Yener, 2007).

Tabela 11: Comparação de tempo de semivida e tempo de permanência no sangue de fármacos em suspensão (SUSP) e encapsulados em nanopartículas lipídicas (SLN) (Kopparam Manjunath & Venkateswarlu, 2005, 2006)

	CLZ - SLN	CLZ - SUSP	NDP - SLN	NDP - SUSP
Tempo semivida	8,67 ± 1,08	4,82 ± 1,05	7,39 ± 1,03	4,32 ± 0,59
Tempo de permanência no sangue	8h	4h	8h	6h

Aquando da preparação das formulações uma das preocupações é a sua distribuição no organismo. A clozapina (CLZ) e a nitrendipina (NDP) veiculadas em nanopartículas lipídicas demonstraram um perfil de distribuição muito satisfatório no coração, fígado, baço, cérebro e rim face à suspensão tradicional. Outro aspeto observado foi o seu potencial em atravessar a BHE (Kopparam Manjunath & Venkateswarlu, 2005, 2006).

O efeito da cadeia lipídica também foi analisada e quanto maior a cadeia lipídica, maior a captação, maior a sua concentração no sangue e maior o tempo de permanência, como demonstrado na tabela 11.

Relativamente à eliminação das partículas da circulação sanguínea esta é realizada pela opsonização, o que torna as partículas mais suscetíveis de serem reconhecidas pelas células fagocíticas; contudo a opsonização pode ser evitada ou minimizada através do revestimento das nanopartículas com polietilenoglicol (PEG) e poloxameros (Li, Eun, & Lee, 2011).

Os sistemas de veiculação lipídicos também estão a ser investigados para utilização intravenosa de fármacos anti-tumorais, como é o caso do metotrexato na artrite reumatoide e como veículo de agentes de contraste na ressonância magnética (Albuquerque, Moura, Sarmento, & Reis, 2015).

4.6. Via retal

Quando há dificuldade em deglutir, em reduzir efeitos adversos provocados por determinadas moléculas, evitar o sabor desagradável de algumas formulações, bem como evitar o efeito de primeira passagem hepática, uma das vias alternativas é a via retal.

Alguns princípios ativos quando injetados provocam dor e inflamação no local, contudo numa situação de emergência a via retal poderá ser uma alternativa, visto que o início de ação no sistema nervoso central é mais rápido.

Sendo a metoclopramida um fármaco anti emético, a sua veiculação em SLN mostrou-se promissora na medida em que o fármaco comercializado mantém uma libertação durante 4h, e a encapsulação com estes novos sistemas de veiculação mostrou uma libertação prolongada ao longo de 24 horas, trazendo vantagens na redução da frequência de administração e prevenção de efeitos adversos.

Tabela 12: Fármacos incorporados em nanopartículas lipídicas de uso retal

Molécula	EE	Veiculo	Método de produção	Resultados	Referencia
Metoclopramida	82,6%	SLN	Homogeneização a quente	Libertação prolongada	(Mohamed, Abass, Attia, & Heikal, 2013)
Diazepam	88%	SLN	Homogeneização a alta pressão Método de ultra-sons	Efeito de libertação prolongada	(Abdelbary & Fahmy, 2009)

4.7. Fármacos presentemente em ensaios clínicos

Atualmente encontram-se em estudo alguns fármacos veiculados em nanopartículas, como exposto na tabela 13.

Tabela 13: Fármacos presentemente em ensaios clínicos <http://www.clinicaltrials.gov>.

Condição	Fármaco	Fase de estudo
Cancros colorretal, pancreático, gástrico, ovárico ou mamários com metástases hepáticas	TKM-080301	Fase 1
Fibrose hepática moderada a grave	Injeção ND-L02-s0201	Fase 1
Candidíase, crónica mucocutânea	Anfotericina B	Fase 2

5. O uso de nanopartículas lipídicas na cosmética

Apesar de não estar compreendido no tema da monografia, a título de curiosidade inclui-se o seu uso na cosmética de modo a demonstrar o seu potencial, não só farmacêutico mas também noutras áreas relacionadas.

O uso de veículos coloidais como as nanopartículas tem inúmeras vantagens na aplicação dérmica, nomeadamente o seu tamanho pequeno leva a que o contacto com o estrato córneo seja mais efetivo e a quantidade de fármaco a penetrar na pele pode ser maior; as suas propriedades oclusivas levam a um efeito de hidratação.

Na pele saudável o estrato córneo contém cerca de 20% de água o que proporciona à pele uma barreira contra a penetração de substâncias exógenas, a oclusão da pele pode aumentar a hidratação do estrato córneo e portanto irá influenciar a absorção percutânea.

Contudo, para a cosmética é importante que o princípio ativo não seja absorvido sistemicamente, mas uma certa penetração na pele é necessária para se obter o efeito desejado.

Na tabela 14 estão expostos alguns cosméticos comerciais que usufruem das propriedades das nanopartículas.

O Cutanova Nano Repair foi o primeiro cosmético lançado em 2005 com esta tecnologia, que na sua composição contém o coenzima Q10, que é um cofator na cadeia respiratória mitocondrial, onde transfere os eletrões livres do complexo I e II para o complexo III durante a fosforilação oxidativa e a síntese de ATP. Além disso, a forma reduzida da coenzima Q10 é uma grande cadeia de quebra antioxidante, diminuindo o dano oxidativo causado pela peroxidação lipídica e diminuindo assim, o dano oxidativo dos lípidos, proteínas e ADN.

Cutanova nanorepair Q10 é um creme que tem na sua formulação NLC. Numa amostra de 31 pessoas provou-se o efeito oclusivo bem como a penetração aumentada da coenzima Q10 no estrato córneo. A hidratação observada no creme contendo NLC é superior ao convencional figura 13, o que nos leva a concluir que estes sistemas de veiculação também são muito úteis na cosmética.

Tabela 14: Cosméticos comerciais com recurso a nanopartículas lipídicas ((Jana Pardeike et al., 2009)

Nome do produto	Produtor / distribuidor	Ano de introdução
Cutanova creme Nano Repair Q10 Sérum intensivo Nano Repair Q10 Creme cutanova nanovital Q10	Dr. Rimples	2005 2006
CLR NanoLipid Q10	Dr. Kurt Richter	2006
SURMER creme ligeiro nano proteção SURMER creme rico nano reestruturante SURMER creme máscara nano hidratante SURMER elixir de beleza nano revitalizante	Isabelle Lancray	2006
IOPE supervital Creme, Sérum e Creme de olhos	Amore pacific	2006
NLC Deep effect Sérum Creme reparador, de reconstrução e sérum de reconstrução	Beate Johnen	2006
Creme regenerador intensivo	Scholl	2007
Swiss cellular white essência de iluminação de olhos Swiss cellular white ampolas intensivas	La Prairie	2007
SURMER creme de contorno de olhos nano remodelante	Isabelle Lancray	2008

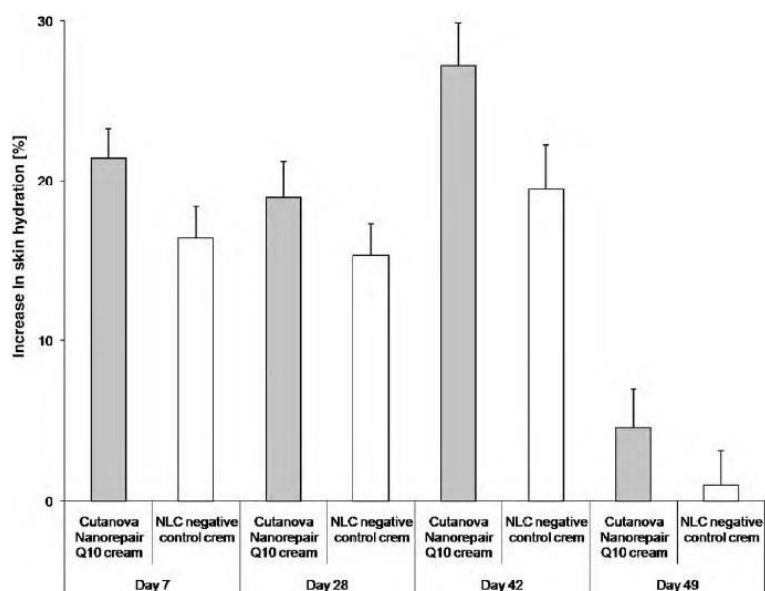


Figura 13: Percentagem de hidratação da pele utilizando uma formulação com e outra sem NLC, durante 48 dias, numa amostra de 31 pessoas (Jana Pardeike, Schwabe, & Muller, 2010).

6. Toxicidade

A nanotoxicologia estuda em particular a toxicidade das nanopartículas. Quanto menor for a nanopartícula maior é a superfície de contacto e maior a sua reatividade biológica, devido à sua forte exposição a fluidos e tecidos pode afetar os mecanismos de regulação de enzimas e outras proteínas por exemplo.

Será necessário mais estudos *in vivo* em humanos para provar o potencial toxicológico das nanopartículas lipídicas, visto que é importante compreender qual a sua distribuição no organismo. É necessário perceber se as moléculas ao atravessarem a BHE causam danos cerebrais, bem como a nível pulmonar se poderão causar alguma inflamação pulmonar.

O uso de materiais biodegradáveis, que já são usados em muitos produtos farmacêuticos e cosméticos e o facto de estes deterem estatuto GRAS, leva a que haja uma segurança acrescida, embora ainda haja uma escassez de estudos e resultados contraditórios.

As nanopartículas lipídicas têm vantagens sob os lipossomas e as nanopartículas poliméricas, uma vez que a sua preparação é viável à escala industrial e também por evitarem substâncias orgânicas. Apesar de se esperar uma toxicidade baixa, ou mesmo nenhuma, os dados que existem até à data são *in vivo* e *ex vivo* em animais.

Sabe-se que o ácido esteárico a uma concentração de 0,1-0,2 mg/ml não apresenta toxicidade e que testes de compatibilidade com células sanguíneas demonstraram resultados encorajadores (Doktorovova, Souto, & Silva, 2014).

Um material biocompatível e biodegradável, o que significa que é degradado em produtos não-tóxicos, deverá ser seguro. Portanto, a citotoxicidade das nanopartículas lipídicas pode ser regulada por escolha dos componentes. Esta toxicidade depois irá variar com as concentrações usadas (Weber et al., 2013)

7. Conclusão e perspectivas futuras

O aparecimento das nanopartículas lipídicas vem contribuir para a veiculação de princípios ativos, tendo em conta que é um sistema que possui inúmeras vantagens, nomeadamente a proteção de moléculas suscetíveis a degradação e versatilidade nos princípios ativos a incorporar.

No processo de desenvolvimento, o mais relevante é a escolha das matérias-primas a utilizar, porque princípios ativos diferentes reagem de modo diferente às mesmas matérias-primas. Desta forma, a escolha tem de incidir em matérias-primas já aprovadas, e que sejam compatíveis com a via de administração pretendida.

Alguns fármacos já foram analisados e os resultados levam a que haja mais investigação, sobretudo porque esta área carece de investigação em humanos, para que se possa determinar melhor o seu potencial.

Uma das temáticas de interesse das nanopartículas lipídicas para além da veiculação de princípios ativos, é o seu uso no diagnóstico nomeadamente para veicular substâncias para posterior deteção em ressonância magnética e ainda no campo das vacinas.

As vias de administração expostas nesta monografia apresentam limitações nomeadamente de biodisponibilidade, e os fármacos apresentados mostram que estes sistemas de veiculação aumentam não só a sua biodisponibilidade como também melhoram o perfil de libertação. Em algumas patologias é vantajoso face à comodidade na administração, bem como o seu perfil de distribuição prolongada que minimiza efeitos adversos indesejáveis.

Um assunto muito abordado quando se fala de nanopartículas é a sua segurança, toxicidade e estabilidade das formulações. As matérias-primas são biodegradáveis e biocompatíveis e, assim sendo, a segurança destas torna-se maior. Quanto à estabilidade um dos problemas levantados reside na agregação e aumento do tamanho das partículas.

Um dos objetivos é manter o tamanho das partículas o mais uniforme possível, porque um dos problemas que poderá surgir é a sua captação pelo sistema fagocitário ao reconhecê-las como corpo estranho; daí uma das alternativas estudadas tem sido a incorporação de cadeias PEG, de modo a minimizar esta problemática.

Atualmente alguns estudos estão a ser efetuados com o intuito de introduzir no mercado medicamentos com esta tecnologia.

8. Bibliografia

- Abdelbary, G., & Fahmy, R. H. (2009). Diazepam-loaded solid lipid nanoparticles: design and characterization. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), 211–9. <http://doi.org/10.1208/s12249-009-9197-2>
- Albuquerque, J., Moura, C. C., Sarmiento, B., & Reis, S. (2015). Solid lipid nanoparticles: A potential multifunctional approach towards rheumatoid arthritis theranostics. *Molecules*, 20(6), 11103–11118. <http://doi.org/10.3390/molecules200611103>
- Aljaeid, B. M., & Hosny, K. M. (2016). Miconazole-loaded solid lipid nanoparticles: Formulation and evaluation of a novel formula with high bioavailability and antifungal activity. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 441–447. <http://doi.org/10.2147/IJN.S100625>
- Azhar, L., Bahari, S., & Hamishehkar, H. (2016). The Impact of Variables on Particle Size of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers; A Comparative Literature Review. *Tabriz University of Medical Sciences*, 6(x), 143–151. <http://doi.org/10.15171/apb.2016.022>
- Basu, B., Garala, K., Bhalodia, R., Joshi, B., & Mehta, K. (2010). Solid lipid nanoparticles: A promising tool for drug delivery system. *Journal of Pharmacy Research*, 3(1), 84–92.
- Beloqui, A., Solinís, M. Á., Rodríguez-Gascón, A., Almeida, A. J., & Prétat, V. (2016). Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 12(1), 143–161. <http://doi.org/10.1016/j.nano.2015.09.004>
- Charcosset, C., El-Harati, A., & Fessi, H. (2005). Preparation of solid lipid nanoparticles using a membrane contactor. *Journal of Controlled Release*, 108(1), 112–120. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.07.023>
- Das, S., & Chaudhury, A. (2011). Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 12(1), 62–76. <http://doi.org/10.1208/s12249-010-9563-0>

- Doktorovova, S., Souto, E. B., & Silva, A. M. (2014). Nanotoxicology applied to solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers - A systematic review of in vitro data. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87(1), 1–18. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.02.005>
- Freitas, C., & Müller, R. H. (1998). Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLN(TM)). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46(2), 145–151. [http://doi.org/10.1016/S0939-6411\(97\)00172-0](http://doi.org/10.1016/S0939-6411(97)00172-0)
- Gasco, M. R., Priano, L., & Zara, G. P. (2009). *Solid lipid nanoparticles and microemulsions for drug delivery: The CNS. Progress in Brain Research* (First edit, Vol. 180). Elsevier. [http://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)80010-6](http://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)80010-6)
- Gaspar, D. P., Faria, V., Gonçalves, L. M. D., Taboada, P., Remuñán-López, C., & Almeida, A. J. (2016). Rifabutin-loaded solid lipid nanoparticles for inhaled antitubercular therapy: Physicochemical and in vitro studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 497(1–2), 199–209. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.11.050>
- Gonzalez-Mira, E., Egea, M. A., Garcia, M. L., & Souto, E. B. (2010). Design and ocular tolerance of flurbiprofen loaded ultrasound-engineered NLC. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(2), 412–421. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.07.029>
- Han, F., Li, S., Yin, R., Liu, H., & Xu, L. (2008). Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructured lipid carriers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1–3), 210–216. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.08.005>
- Hippalgaonkar, K., Adelli, G. R., Hippalgaonkar, K., Repka, M. A., & Majumdar, S. (2013). Indomethacin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Ocular Delivery: Development, Characterization, and *In Vitro* Evaluation. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 29(2), 216–228. <http://doi.org/10.1089/jop.2012.0069>
- Horiguchi, T., & Takeshita, K. (2003). Neuropsychological developmental change in a case with Noonan syndrome: longitudinal assessment. *Brain & Development*,

- 25(4), 291–293. <http://doi.org/10.1016/S0>
- Hosny, K. M., & Aljaeid, B. M. (2014). Sildenafil citrate as oral solid lipid nanoparticles: a novel formula with higher bioavailability and sustained action for treatment of erectile dysfunction. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11(7), 1015–1022. <http://doi.org/10.1517/17425247.2014.912212>
- Kathe, N., Henriksen, B., & Chauhan, H. (2014). Physicochemical characterization techniques for solid lipid nanoparticles: principles and limitations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 9045(12), 1–11. <http://doi.org/10.3109/03639045.2014.909840>
- Kayser, O., Lemke, a, & Hernández-Trejo, N. (2005). The impact of nanobiotechnology on the development of new drug delivery systems. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 6(1), 3–5. <http://doi.org/10.2174/1389201053167158>
- Khare, A., Singh, I., Pawar, P., & Grover, K. (2016). Design and Evaluation of Voriconazole Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Ophthalmic Application. *Journal of Drug Delivery*, 2016, 1–11. <http://doi.org/10.1155/2016/6590361>
- Lasoń, E., & Ogonowski, J. (2011). Solid Lipid Nanoparticles – characteristics , application and obtaining. *Chemik International*, (10), 960–967.
- Li, R., Eun, J. S., & Lee, M. K. (2011). Pharmacokinetics and biodistribution of paclitaxel loaded in pegylated solid lipid nanoparticles after intravenous administration. *Archives of Pharmacal Research*, 34(2), 331–337. <http://doi.org/10.1007/s12272-011-0220-2>
- Lütfti, G., & Müzeyyen, D. (2013). Preparation and characterization of polymeric and lipid nanoparticles of pilocarpine HCl for ocular application. *Pharmaceutical Development & Technology*, 18(3), 701–709. <http://doi.org/10.3109/10837450.2012.705298>
- Manjunath, K., Reddy, J. S., & Venkateswarlu, V. (2005). Solid lipid nanoparticles as drug delivery systems. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(2), 127–44. <http://doi.org/10.1358/mf.2005.27.2.876286>
- Manjunath, K., & Venkateswarlu, V. (2005). Pharmacokinetics, tissue distribution and

- bioavailability of clozapine solid lipid nanoparticles after intravenous and intraduodenal administration. *Journal of Controlled Release*, 107(2), 215–228. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.06.006>
- Manjunath, K., & Venkateswarlu, V. (2006). Pharmacokinetics, tissue distribution and bioavailability of nitrendipine solid lipid nanoparticles after intravenous and intraduodenal administration. *Journal of Drug Targeting*, 14(9), 632–45. <http://doi.org/10.1080/10611860600888850>
- Marcato, P. D. (2009). Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, VI(2), 1–37. <http://doi.org/10.5216/ref.v6i2.6545>
- Mohamed, R. A., Abass, H. A., Attia, M. A., & Heikal, O. A. (2013). Formulation and evaluation of metoclopramide solid lipid nanoparticles for rectal suppository. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(11), 1607–1621. <http://doi.org/10.1111/jphp.12136>
- Muchow, M., Maincent, P., & Muller, R. H. (2008). Lipid Nanoparticles with a Solid Matrix (SLN®, NLC®, LDC®) for Oral Drug Delivery. *Drug Development & Industrial Pharmacy*, 34(12), 1394–1405. <http://doi.org/10.1080/03639040802130061>
- Nair, R., Kumar, K. S. A., Priya, K. V., & Sevukarajan, M. (2011). Recent Advances in Solid Lipid Nanoparticle Based Drug Delivery Systems, 3(2), 368–384.
- Neupane, Y. R., Sabir, M. D., Ahmad, N., Ali, M., & Kohli, K. (2013). Lipid drug conjugate nanoparticle as a novel lipid nanocarrier for the oral delivery of decitabine: ex vivo gut permeation studies. *Nanotechnology*, 24(41), 1–11. <http://doi.org/10.1088/0957-4484/24/41/415102>
- Olbrich, C., Gessner, A., Kayser, O., & Müller, R. H. (2002). Lipid-drug-conjugate (LDC) nanoparticles as novel carrier system for the hydrophilic antitrypanosomal drug diminazenediacetate. *Journal of Drug Targeting*, 10(5), 387–396. <http://doi.org/10.1080/1061186021000001832>
- Olbrich, C., Gessner, A., Schröder, W., Kayser, O., & Müller, R. H. (2004). Lipid-drug conjugate nanoparticles of the hydrophilic drug diminazene - Cytotoxicity testing and mouse serum adsorption. *Journal of Controlled Release*, 96(3), 425–435.

<http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.02.024>

- Pardeike, J., Hommoss, A., & Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, 366(1–2), 170–184. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.10.003>
- Pardeike, J., Schwabe, K., & Muller, R. H. (2010). Influence of nanostructured lipid carriers (NLC) on the physical properties of the Cutanova Nanorepair Q10 cream and the in vivo skin hydration effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 396(1–2), 166–173. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.06.007>
- Pardeike, J., Weber, S., Haber, T., Wagner, J., Zarfl, H. P., Plank, H., & Zimmer, A. (2011). Development of an Itraconazole-loaded nanostructured lipid carrier (NLC) formulation for pulmonary application. *International Journal of Pharmaceutics*, 419(1–2), 329–338. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.07.040>
- Parhi, R., & Suresh, P. (2012). Preparation and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles-A Review. *Current Drug Discovery Technologies*, 9(1), 2–16. <http://doi.org/10.2174/157016312799304552>
- Parveen, S., Misra, R., & Sahoo, S. K. (2012). Nanoparticles: A boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(2), 147–166. <http://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.016>
- Patil-Gadhe, A., Kyadarkunte, A., Patole, M., & Pokharkar, V. (2014). Montelukast-loaded nanostructured lipid carriers: Part II Pulmonary drug delivery and in vitro-in vivo aerosol performance. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(1), 169–177. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.07.007>
- Patlolla, R. R., Chougule, M., Patel, A. R., Jackson, T., Tata, P. N., & Singh, M. (2011). NIH Public Access, 144(2), 233–241. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.02.006>. Formulation
- Pizzol, C. D., Filippin-Monteiro, F. B., Restrepo, J. A. S., Pittella, F., Silva, A. H., Souza, P. A. de, ... Creczynski-Pasa, T. B. (2014). Influence of surfactant and lipid type on the physicochemical properties and biocompatibility of solid lipid nanoparticles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(8), 8581–8596. <http://doi.org/10.3390/ijerph110808581>

- Purohit, D. K., Nandgude, T. D., & Poddar, S. S. (2016). Nano-lipid Carriers for Topical Application: Current Scenario, *2016*(5), 1–9.
- Rawat, M., Singh, D., Saraf, S., & Saraf, S. (2006). Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, *29*(9), 1790–1798. <http://doi.org/10.1248/bpb.29.1790>
- Reddy, R. N., & Shariff, A. (2012). Solid Lipid Nanoparticles: An advanced drug delivery system, *3*(7), 2098–2104.
- Rizwanullah, M., Amin, S., & Ahmad, J. (2016). Improved pharmacokinetics and anti-hyperlipidemic efficacy of Rosuvastatin loaded nanostructured lipid carriers. *Journal of Drug Targeting*, *2330*(May), 1–35. <http://doi.org/10.1080/1061186X.2016.1191080>
- Seyfoddin, A., & Al-Kassas, R. (2013). Development of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for improving ocular delivery of acyclovir. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *39*(February 2013), 1–12. <http://doi.org/10.3109/03639045.2012.665460>
- Shah, K. A., Date, A. A., Joshi, M. D., & Patravale, V. B. (2007). Solid lipid nanoparticles (SLN) of tretinoin: Potential in topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *345*(1–2), 163–171. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.05.061>
- Shah, M. K., Madan, P., & Lin, S. (2014). Preparation, in vitro evaluation and statistical optimization of carvedilol-loaded solid lipid nanoparticles for lymphatic absorption via oral administration. *Pharmaceutical Development and Technology*, *19*(4), 475–485. <http://doi.org/doi:10.3109/10837450.2013.795169>
- Shah, N. V., Seth, A. K., Balaraman, R., Aundhia, C. J., Maheshwari, R. A., & Parmar, G. R. (2016). Nanostructured lipid carriers for oral bioavailability enhancement of raloxifene: Design and in vivo study. *Journal of Advanced Research*, *7*(3), 423–434. <http://doi.org/10.1016/j.jare.2016.03.002>
- Shidhaye, S. S., Vaidya, R., Sutar, S., Patwardhan, A., & Kadam, V. J. (2008). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers--innovative generations of solid lipid carriers. *Current Drug Delivery*, *5*(4), 324–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18855604>

- Soni, K., Kukereja, B. K., Kapur, M., & Kohli, K. (2015). Lipid nanoparticles: Future of oral drug delivery and their current trends and regulatory issues, 7(1), 1–18.
- Svilenov, H., & Tzachev, C. (2009). Solid Lipid Nanoparticles - A Promising Drug Delivery. In *Nanomedicine* (pp. 187–237).
- Taylor, M. J., Tanna, S., & Sahota, T. (2010). In vivo study of a polymeric glucose-sensitive insulin delivery system using a rat model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(10), 4215–4227. <http://doi.org/10.1002/jps>
- Tupal, A., Sabzichi, M., Ramezani, F., Kouhsoltani, M., & Hamishehkar, H. (2016). Dermal delivery of doxorubicin-loaded solid lipid nanoparticles for the treatment of skin cancer. *Journal of Microencapsulation*, 2048(June), 1–9. <http://doi.org/10.1080/02652048.2016.1200150>
- Üner, M., & Yener, G. (2007). Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspective. *International Journal of Nanomedicine*, 2(3), 289–300.
- Vásquez, M. L. (2008). Nanopartículas lipídicas sólidas Solid lipid nanoparticles. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39, 38–52.
- Wang, W., Zhu, R., Xie, Q., Li, A., Xiao, Y., Li, K., ... Wang, S. (2012). Enhanced bioavailability and efficiency of curcumin for the treatment of asthma by its formulation in solid lipid nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 7(July), 3667–3677. <http://doi.org/10.2147/IJN.S30428>
- Weber, S., Zimmer, A., & Pardeike, J. (2013). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for pulmonary application: A review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 86(1), 7–22. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.08.013>
- Weissig, V., Pettinger, T. K., & Murdock, N. (2014). Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 4357–4373. <http://doi.org/10.2147/IJN.S46900>
- Wissing, S. A., Kayser, O., & Müller, R. H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(9), 1257–1272. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2003.12.002>

- Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6(2), 112–115.
<http://doi.org/10.1016/j.partic.2007.12.002>
- Yadav, N., Khatak, S., Vir, U., & Sara, S. (2013). Solid lipid nanoparticles - a review. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 5(2), 8–18.
- Yu, Q., Hu, X., Ma, Y., Xie, Y., Lu, Y., Qi, J., Wu, W. (2016). Lipids-based nanostructured lipid carriers (NLCs) for improved oral bioavailability of sirolimus. *Drug Delivery*, 7544(March), 1–7. <http://doi.org/10.3109/10717544.2016.1153744>
- Zhang, Z. H., Zhang, Y. L., Zhou, J. P., & Lv, H. X. (2012). Solid lipid nanoparticles modified with stearic acid-octaarginine for oral administration of insulin. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3333–3339.
<http://doi.org/10.2147/IJN.S31711>